



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA CIVIL



MICHELLI FERREIRA DE OLIVEIRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA COMO CONTROLE DE QUALIDADE DE
PROCESSO AERÓBIO ALIMENTADO POR EFLUENTE DE REATOR UASB**

São Cristóvão - SE

2020

MICHELLI FERREIRA DE OLIVEIRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA COMO CONTROLE DE QUALIDADE DE
PROCESSO AERÓBIO ALIMENTADO POR EFLUENTE DE REATOR UASB**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Luciana Coêlho Mendonça

Coorientador: Prof. Dr. Silvio Santana Dolabella

São Cristóvão - SE

2020

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MICHELLI FERREIRA DE OLIVEIRA

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE EM 14 DE AGOSTO DE 2020

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dra. Luciana Coêlho Mendonça
Orientadora (PROEC/UFS)

Prof. Dr. Silvio Santana Dolabella
Coorientador (PROBP/UFS)

1º Examinador
Prof^ª. Dra. Denise Conceição de Gois Santos Michelin
Examinador interno (PROEC/UFS)

2º Examinador
Prof^ª. Dra. Eloisa Pozzi
Examinador externo (EESC/USP)

AGRADECIMENTOS

Sou grata, primeiramente a Deus por ter criado os céus, a terra e tudo que há nela. Por também ter criado o homem a sua imagem e semelhança, nos permitindo desenvolver nossos dons celestes e buscar conhecer mais tudo o que Ele criou. Sou grata também por todas as bênçãos que a mim foram concedidas e por sempre estar comigo, me erguendo quando eu tropeço e comemorando comigo nos momentos de felicidade.

Sou grata à minha orientadora que me permitiu evoluir de forma que não imaginava ser possível antes. Obrigada por ter tido tanta paciência comigo e me ajudado a desenvolver esse trabalho. Obrigada por todo o suporte e o apoio que a senhora sempre ofereceu. Obrigada também por ter puxado minha orelha quando eu precisava. Espero que um dia chegue perto de sua capacidade de orientação. És um grande exemplo de como um pesquisador deve ser. Obrigada por sempre estar disponível a corrigir o material que eu enviava, pois isso contribuiu de forma significativa para que esse trabalho chegasse nessa versão. Obrigada por nunca ter deixado faltar os materiais que eram necessários ao desenvolvimento da pesquisa. Obrigada por ter me inserido em projetos de pesquisa, por ter me ajudado a preparar as aulas durante o estágio de docência. Obrigada por todos os ensinamentos, sem dúvida sem a senhora eu não iria conseguir terminar esse mestrado.

Agradeço também ao meu Coorientador, o professor Silvio que esteve comigo desde o início da pesquisa. Obrigada por ter me ensinado a observar os micro-organismos no microscópio. Obrigada por ter disponibilizado seu tempo para me acompanhar em todas as semanas que levava as amostras para serem analisadas no laboratório. Obrigada por ter me mostrado outras possibilidades de análise microbiológica e por ter feito a parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), permitindo assim a realização dos experimentos no MALDI-TOF.

Agradeço à professora Ana Andreia Barbosa que disponibilizou tempo para me ensinar a preparar os materiais e a fazer o ensaio e também por ter disponibilizado o Laboratório de Microbiologia para que eu pudesse fazer o cultivo das bactérias. Obrigada também por ter sido sempre atenciosa comigo.

Agradeço ao professor Andrey Sacramento que disponibilizou seu tempo para me ensinar a fazer repiques e purificação de colônias de bactérias, coisas que eu nunca tinha sonhado em fazer antes. Obrigada por ter me acompanhado nessa jornada, por ter disponibilizado material quando eu precisava, por ter me acalmado quando alguma coisa dava errada e por sempre estar disposto a ajudar e sanar minhas dúvidas.

Agradeço às professoras Denise Michelin, Daniella Rocha e Eloisa Pozzi que contribuíram na correção deste trabalho durante a qualificação e a defesa, indicando vários pontos que eu precisava melhorar.

Agradeço a Tamires que sempre esteve comigo no Laboratório de Saneamento e Meio Ambiente (SAMA) me ajudando nos ensaios, além de me dar o ombro quando eu precisava chorar. Agradeço por ter me escutado e me acompanhado durante tantas semanas de coletas. Além de uma excelente profissional, é uma grande amiga. Agradeço também a Vitória que, por diversas vezes, me ajudou com as análises.

Agradeço a todos os operadores da Estação de Tratamento de Esgoto da UFS que sempre estavam dispostos a ajudar na coleta do material e em especial a Leina pelas preciosas informações sobre a ETE e ao sr. Givaldo por toda a assistência que me deu.

Agradeço a Mateus que sempre auxiliou com o uso da estufa do laboratório de Materiais de Construção. Agradeço a Marta e ao Carlos que me ajudaram a autoclavar os materiais que precisava para coleta semanal.

A todos os professores do PROEC, em especial aos professores Ludmilson Mendes, Débora Santos, Denise Michelan, Nilma Andrade, Daniel Lima e Tatiana Albuquerque que me ajudaram a ampliar os conhecimentos durante as disciplinas que foram cursadas.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa concedida, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela colaboração no desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a todos os amigos da pós-graduação que entraram no mesmo período que eu e dividiram as alegrias e as tristezas vividas durante esse período. Em especial agradeço ao Alan, a Kelly, ao Anderson e a Angelis que foram excepcionais comigo, sempre partilhando essa jornada.

Agradeço às minhas amigas e conselheiras Isabela e Daniela que se disponibilizavam a me ouvir e me dar conselhos de como eu poderia melhorar o trabalho. Agradeço por terem me dado força. Agradeço ao Erwin e a Betyna que me fizeram rir, e estavam sempre dispostos a embarcar comigo em novos projetos e a me escutar. Agradeço também a Lucas, a Letícia, ao Osvaldo e a Damildes que foram meus amigos desde o início da graduação e seguiram comigo até aqui.

Agradeço à minha família que sempre me deu o suporte e força para poder seguir, sei que sem vocês meu caminho seria muito mais difícil. Aos meus pais, Maria e Givaldo, que foram a base da minha educação e que sempre me ensinaram a ser uma pessoa melhor a cada dia. Aos meus irmãos Anderson, Jaqueline e Natali que sempre estiveram presentes em cada conquista. À minha avó Maria e aos meus tios Marcos José e Marcos Leonídio.

Agradeço ao meu companheiro Greison. Só você para dar à minha vida direção, o tom, a cor e me fazer voltar a ver a luz. Agradeço o incentivo, por sempre me apoiar, me aconselhar e me consolar quando eu precisava. Obrigada por me ajudar no laboratório e contribuir com a pesquisa. Obrigada por sempre cuidar de mim quando ficava doente. Obrigada por aturar todos os meus bicos e as minhas birras e por me ajudar a ser uma pessoa melhor. Quero dizer para sempre que eu te mereço.

Por fim, agradeço de coração a todos que contribuíram de alguma forma, tornando os meus fardos mais leves, para que eu pudesse concluir essa etapa em minha jornada que será um divisor de águas.

OLIVEIRA, M. F. **Análise microbiológica como controle de qualidade de processo aeróbio alimentado por efluente de reator UASB**. 2020. 119p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2020.

RESUMO

O estudo da microbiota que compõe o sistema de tratamento biológico de esgotos permite análise das condições de operação e da qualidade do efluente, uma vez que os micro-organismos apresentam alta sensibilidade a pequenas variações do ambiente. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo caracterizar a comunidade microbiana presente no tanque de aeração do sistema combinado, composto por reator UASB seguido por valo de oxidação, empregado na Estação de Tratamento dos Esgotos (ETE) da Universidade Federal de Sergipe. Para isso, foram monitorados os parâmetros físico-químicos da ETE e realizados exames microbiológicos qualitativos e quantitativos do licor misto para avaliar a microbiota do valo de oxidação. Como resultados, foram obtidos 39 isolados bacterianos, os quais foram avaliados posteriormente em termos de perfis proteicos por MALDI-TOF, onde foram identificados 13 gêneros distintos que são característicos dos sistemas de tratamento de esgoto. Os gêneros predominantes foram *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterococcus* e *Enterobacter*. Foi possível inferir que 63% das bactérias identificadas são facultativas e apenas 37% são aeróbias. No geral, os gêneros de bactérias identificados apresentam grande importância para o tratamento uma vez que possuem propriedades de remoção de matéria orgânica, de nutrientes e estruturação da biomassa. O número médio de bactérias heterotróficas encontrado no sistema foi de $9,40 \times 10^7$ UFC/mL. Foram encontrados poucos protozoários e metazoários devido ao fato de as amostras coletadas serem bem diluídas. A temperatura nos pontos coletados esteve na faixa de 24 a 32°C considerada ótima para as atividades bacterianas e os valores de pH variaram de neutro a levemente alcalino. Quanto às concentrações de OD no valo de oxidação, obteve-se valores que variaram de 0,6 e 0,8 mg/L, antes dos aeradores serem ligados, e entre 1,7 e 4,4mg/L, após serem ligados. Na ETE, a eficiência média de remoção de DQO foi de 30%, enquanto a de sólidos totais foi de 9%, valores bem abaixo dos encontrados na literatura para sistemas combinados. A baixa frequência e a diversidade de micro-organismos, observados durante a análise microscópica, indicam que o polimento do efluente tratado por parte destes organismos não está sendo realizado de forma adequada, reduzindo assim a eficiência do tratamento. A análise de correlação entre os parâmetros microbiológicos e físico-químicos indicou haver correlação moderada positiva com as concentrações de OD e sólidos, sendo então possível inferir que influenciam na quantidade de bactérias presentes no meio. Após avaliar os resultados apresentados, foi possível concluir que as condições operacionais da ETE influenciaram na comunidade encontrada durante o monitoramento e que a quantidade de bactérias encontradas junto com baixa frequência de aparecimento dos protozoários e metazoários demonstraram que a eficiência de remoção de matéria orgânica no sistema está insatisfatória.

Palavras-chave: Microbiota. Valo de oxidação. Tratamento biológico. Processo combinado.

OLIVEIRA, M. F. **Análise microbiológica como controle de qualidade de processo aeróbio alimentado por efluente de reator UASB**. 2020. 119p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2020.

ABSTRACT

The study of the microbiota that composes the biological wastewater treatment systems allows analysis of operating conditions and effluent quality, since microorganisms are highly sensitive to small variations in the environment. So, this work aimed to characterize the microbial community present in the combined system's aeration tank, consisting of a UASB reactor followed by an oxidation ditch, used at the Wastewater Treatment Plant (WWTP) of the Federal University of Sergipe. Physical-chemical parameters of the WWTP were monitored and qualitative and quantitative microbiological examinations of the mixed liquor were carried out to evaluate the microbiota of the oxidation ditch. As a result, 39 bacterial isolates were obtained, which were subsequently evaluated in terms of protein profiles by MALDI-TOF, where 13 distinct genera that are characteristic of sewage treatment systems were identified. The predominant genus of bacteria were *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterococcus* and *Enterobacter*. It was possible to infer that 63% of the identified bacteria are facultative and only 37% are aerobic. Genus of bacteria identified are very important for the treatment because they have properties of removing organic matter, nutrients and structuring biomass. The average number of heterotrophic bacteria found in the system was 9.40×10^7 CFU/mL. Few protozoa and metazoans were found due to the diluted samples collected. The temperature of the samples was in the range of 24 a 32°C considered optimal for bacterial activities and the pH values varied from neutral to slightly alkaline. The DO concentrations in the oxidation ditch varied from 0.6 and 0.8 mg/L, before the aerators were turned on, and between 1.7 and 4.4 mg/L, after being turned on. At the WWTP, the average efficiency of COD removal was 30%, while efficiency of total solids was 9%. These values are lower than that found in the literature for combined systems. The low frequency and diversity of microorganisms observed during the microscopic analysis indicate that the polishing of the treated effluent by these organisms is not being carried out properly, reducing the efficiency of the treatment. The correlation analysis between the microbiological and physical-chemical parameters indicated that there was a moderate positive correlation with the concentrations of DO and solids. Thus, it's possible to infer these parameters influence the number of bacteria present in the mixed licour. So, it was concluded that the operational conditions of the WWTP influence the microbiological community found in this study. In addition, the amount of bacteria found and the low frequency of the appearance of protozoa and metazoans demonstrated that the efficiency of organic matter removal in the system is unsatisfactory.

Keywords: Microbiota. Oxidation ditch. Biological treatment. Combined process.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTS	<i>Bacterial Test Standard</i>
DAPI	4',6'-diamino-2-fenil-indol
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DGGE	<i>Denaturing Gradient gel electrophoresis</i> - Eletroforese em gel com gradiente de desnaturantes
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EMBLE	European Molecular Biology Laboratory
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FISH	<i>Fluorescence in situ Hybridization</i> - Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente
IVD	<i>In Vitro Diagnostic System</i>
IVL	Índice Volumétrico de Lodo
LAQUA	Laboratório de Aquicultura
LEPAT	Laboratório de Entomologia e Parasitologia Tropical
LMO	Laboratório de Microbiologia Aplicada
MALDI	<i>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization</i> - Ionização por Dessorção a Laser Assistida por Matriz
MSP	<i>Main Spectra Projections</i>
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NTK	Nitrogênio Total Kjeldhal
OD	Oxigênio Dissolvido
PCA	<i>Plate Caunt Agar</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> - Reação em cadeia de polimerase
RAALF	Reator ombinado naeróbio-aeróbio de leito fixo
RNA	Ácido Ribonucleico

SAMA	Laboratório de Saneamento e Meio Ambiente
Ssed	Sólidos sedimentáveis
SSF	Sólidos em Suspensão Fixos
SST	Sólidos em Suspensão Totais
ST	Sólidos Totais
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TOF	<i>Time of flight</i> – Tempo de voo
T-RFLP	Polimorfismo no Comprimento dos Fragmentos com Restrição Terminal
TSA	Trypticase Soy Agar
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFS	Universidade Federal de Sergipe

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tipos de flocos biológico em sistemas de tratamento aeróbio.	11
Figura 2 - Configuração de um sistema de lodos ativados.	12
Figura 3 - Impacto da temperatura na microbiota de sistema de lodos ativados.	17
Figura 4 - Sequência de predominância relativa dos principais micro-organismos envolvidos no tratamento aeróbio em função do tempo.	26
Figura 5 - Delimitação da UFS – <i>Campus</i> São Cristóvão.	40
Figura 6 - Vista panorâmica da ETE da UFS.	41
Figura 7 - Etapas do sistema tratamento de efluentes na ETE da UFS.	42
Figura 8 - Fluxograma dos pontos de amostragem para cada parâmetro monitorado.	43
Figura 9 - Achados celulares de esfregaços submetidos ao teste de coloração de Gram.	47
Figura 10 - Coloração de Gram.	47
Figura 11 - Equipamento do MALDI – TOF.	48
Figura 12 - Fluxograma de trabalho do MALDI - TOF (método de transferência direta).	49
Figura 13 - Fluxograma de trabalho do MALDI - TOF pelo método de extração.	51
Figura 14 - Correspondência de padrão de picos do espectro fornecido pelo Biotyper 51	51
Figura 15 - Vazão afluyente na ETE da UFS 54	54
Figura 16 - Monitoramento da temperatura. 56	56
Figura 17 - Monitoramento do pH. 57	57
Figura 18 - Monitoramento do OD 59	59
Figura 19 - Monitoramento da DQO. 61	61
Figura 20 - Monitoramento de Sólidos Totais. 63	63
Figura 21 - Monitoramento dos Sólidos Suspensos. 64	64
Figura 22 - Monitoramento dos Sólidos Dissolvidos. 65	65
Figura 23 - Monitoramento dos Sólidos Sedimentáveis 66	66
Figura 24 - Placas com colônias de bactérias de diferentes gêneros. 69	69
Figura 25 - Frequência dos gêneros identificados por MALDI-TOF. 74	74
Figura 26 - Frequência de bactérias facultativas e aeróbias estritas identificadas por MALDI-TOF ... 82	82
Figura 27 - Presença de Cianobactérias. 88	88
Figura 28 - Presença de Nematoides 88	88
Figura 29 - Semelhante a <i>Gastrotricha</i> 89	89
Figura 30 - Presença de Rotífero Semelhante a <i>Encentrum</i> 89	89
Figura 31 - Presença de Rotíferos 90	90
Figura 32 - Presença de ciliados livres. 91	91
Figura 33 - Presença de ciliados fixo e predadores de flocos. 92	92

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Parâmetros para o lançamento de esgoto em corpos hídricos conforme a Resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).....	6
Quadro 2 - Aceptores de elétrons típicos das reações de oxidação no tratamento de esgoto.....	7
Quadro 3 - Concentrações mínimas de oxigênio requeridas para o correto funcionamento de sistemas aeróbios segundo a NBR – 12.209/2011.....	18
Quadro 4 - Frequência de aparecimento dos micro-organismos para avaliar a qualidade do lodo do licor misto.....	22
Quadro 5 - Frequência das espécies presentes na microfauna de lodos ativados.....	23
Quadro 6 - Micro-organismos indicadores das condições de depuração de lodos ativados.....	24
Quadro 7 - Indicadores do desempenho do sistema de tratamento por meio de grupos dominantes encontrados na microfauna.....	25
Quadro 8 - Micro-organismos e macro-organismos invertebrados comumente encontrados em filtros biológicos percoladores.....	27
Quadro 9 - Gênero de bactérias encontradas comumente em lodos ativados.	30
Quadro 10 - Principais gêneros e funções de bactérias encontradas em lodos ativados.	30
Quadro 11 - Condições ambientais do sistema de tratamento de esgoto associadas com o crescimento dos organismos filamentosos.....	39
Quadro 12 - Parâmetros analisados, pontos de coleta das amostras e métodos usados.	45
Quadro 13 - Classificação dos valores de escore	50
Quadro 14 - Caracterização celular dos isolados bacterianos.	70
Quadro 15 - Escores obtidos para cada isolado na classificação fornecida pelo <i>software</i> MALDI Biotyper	72
Quadro 16 - Diversidade dos micro-organismos encontrados no valo de oxidação identificados por MALDI-TOF com relação ao gênero e à espécie	73
Quadro 17 - Frequência de aparecimento protozoários e metazoários no licor misto.	86
Quadro 18 – Protozoários e metazoários identificados no licor misto e a semelhança com os gêneros decritos.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação entre o Índice Volumétrico de Lodo e as características de sedimentabilidade do sistema de lodos ativados.....	12
Tabela 2 - Concentração de oxigênio necessário nos processos de lodos ativados.....	31
Tabela 3 - Faixas de temperatura típicas para o desenvolvimento ótimo das bactérias classificadas como psicrófilas, mesófilas e termófilas.	32
Tabela 4 - Estatística descritiva da vazão afluente.....	54
Tabela 5 - Estatística descritiva da temperatura.	56
Tabela 6 - Estatística descritiva do OD.....	59
Tabela 7 - Estatística descritiva da DQO.	60
Tabela 8 - Valores de DQO, DBO e relação DQO/DBO.....	62
Tabela 10 - Estatística descritiva do parâmetro Sólidos Totais.....	63
Tabela 10 - Estatística descritiva dos sólidos suspensos.....	64
Tabela 12 - Estatística descritiva dos sólidos dissolvidos.....	65
Tabela 13 - Estatística descritiva dos sólidos sedimentáveis.....	66
Tabela 14 - Resultado do monitoramento do IVL.....	68
Tabela 15 - Estatística descritiva do IVL.....	68
Tabela 16 - Resultado do monitoramento da relação A/M.....	68
Tabela 17 - Quantificação das bactérias heterótrofas presentes no licor misto do valo de oxidação....	83
Tabela 18 - Correlação entre a quantidade de bactérias heterótrofas e os parâmetros físico-químicos no valo de oxidação	93
Tabela 18 - Valores médios dos parâmetros físico-químicos monitorados (Parte I).....	118
Tabela 19 - Valores médios dos parâmetros físico-químicos monitorados (Parte II).	119

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE QUADROS	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
SUMÁRIO	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 <i>Objetivo Geral</i>	4
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Caracterização dos efluentes domésticos.....	5
3.2 Tratamento de Efluentes.....	6
3.3 Princípios do tratamento biológico de esgoto sanitário.....	7
3.3.1 Remoção de matéria orgânica em condições aeróbias	8
3.3.2 Remoção de matéria orgânica em condições anaeróbias	8
3.4 Sistemas biológicos utilizados no tratamento de esgotos sanitários	9
3.4.1 Lodos ativados	9
3.4.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB).....	13
3.4.3 Reatores combinados anaeróbio – aeróbio	14
3.5 Análise das comunidades microbianas	15
3.5.1 Condições e fatores ambientais que limitam o crescimento dos micro-organismos	16
3.5.2 Análise de comunidades microbianas dependentes de cultivo.....	18
3.5.3 Análises microscópicas de comunidades microbianas independentes de cultivo.....	19
3.5.4 Análises genéticas de comunidades microbianas independentes de cultivo.....	20
3.6 Considerações sobre a análise microbiana.....	21
3.7 Micro-organismos de importância para o sistema de tratamento biológico	25
3.8 Microbiologia de lodos ativados	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 Caracterização da área de estudo	40
4.2 Coletas amostrais.....	42
4.3 Monitoramento físico-químico.....	44
4.4 Monitoramento microbiológico	46
4.4.1 Quantificação de bactérias heterótrofas	46
4.4.2 Caracterização das bactérias.....	46
4.4.2.1 Método de coloração de Gram	47
4.4.2.2 Análise das bactérias isoladas através da espectrometria de massa com ionização por laser (MALDI-TOF).....	48
4.5 Microscopia óptica comum	52
4.6 Análise estatística	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 Monitoramento físico-químico.....	54
5.1.1 Temperatura e pH.....	55
5.1.2 Oxigênio dissolvido (OD)	58
5.1.3 DQO.....	60
5.1.4 Relação DQO/DBO	61
5.1.5 Sólidos.....	62
5.1.6 Índice Volumétrico do Lodo (IVL).....	67
5.1.7 Relação Alimento/Micro-organismos (A/M)	68
5.2 Monitoramento microbiológico	69

5.2.1 Caracterização morfológica.....	69
5.2.2 Identificação bacteriana por MALDI-TOF.....	71
5.2.3 Prevalência bacteriana dos isolados identificadas por MALDI Biotyper	73
5.2.4 Comunidade bacteriana	83
5.2.5 Protozoários e metazoários.....	85
5.3 Correlação da quantidade de bactérias com os parâmetros físico-químicos.....	93
6 CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS.....	97
APÊNDICE A.....	118

1 INTRODUÇÃO

Água residuária ou esgoto sanitário é o termo usado para as águas que apresentam alteração de suas características naturais por diversos usos em atividade comercial, industrial ou doméstica (FUNASA, 2004). De acordo com a origem, são resultantes da combinação de líquidos e resíduos sólidos transportados pela água, provenientes de residências, estabelecimentos comerciais e industriais, águas subterrâneas, superficiais ou de precipitação, que ocasionalmente podem ser incorporadas ao esgoto (MENDONÇA, 1987).

Os esgotos domésticos provêm de edificações que dispõem instalações de banheiros, lavanderias e cozinhas. São compostos de constituintes físicos, químicos e biológicos, sendo uma mistura de materiais orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos. Grande parte dessa matéria consiste em resíduos alimentícios, fezes, matéria vegetal, sais minerais e outros materiais, como detergentes sintéticos (MENDONÇA; MENDONÇA, 2016).

A composição aproximada do esgoto doméstico é elevada em termos de porcentagem de água, aproximadamente 99,93% e somente 0,07% de sólidos suspensos, coloidais e dissolvidos, fazendo com que a água seja meramente o meio de transporte desses sólidos que são recolhidos pela rede de esgotamento, sendo destinado a um sistema de tratamento (METCALF; EDDY, 2014).

As técnicas de tratamento que ocorrem inteiramente por mecanismos biológicos, têm como meta a geração de um efluente depurado dos seus principais poluentes, como a remoção de sólidos suspensos e de matéria orgânica biodegradável (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Segundo Jordão e Pessoa (2014), esse processamento de depuração se deve à capacidade dos micro-organismos de utilizarem os compostos orgânicos biodegradáveis, transformando-os em subprodutos (lodo e gases) que podem ser removidos do sistema de tratamento. Essas unidades apresentam uma série de vantagens de caráter econômico, incentivando assim o aperfeiçoamento do tratamento com relação ao desenvolvimento de inovações (TAVARES, 2017).

Os reatores biológicos podem ser aeróbios (presença de oxigênio), anaeróbios (ausência de oxigênio e nitrato) ou anóxicos (ausência de oxigênio dissolvido e presença de nitratos e/ou nitritos); no entanto, Metcalf e Eddy (2014) acrescentam que a combinação destes processos é amplamente aplicada para oxidação de carbono e remoção de nutrientes.

Para a remoção de matéria orgânica, os reatores biológicos, tanto aeróbios quanto anaeróbios, utilizam grande diversidade de micro-organismos para realizar a decomposição da matéria orgânica e dos nutrientes (BISWAS; TURNER, 2012; ZIGANSHIN *et al.*, 2013;

NORDGARD *et al.*, 2015).

Nos reatores anaeróbios, a conversão de matéria orgânica complexa a biogás é realizada através da cooperação de uma ampla gama de bactérias e arqueas, onde as bactérias são responsáveis em converter a matéria orgânica em ácidos graxos voláteis, CO_2 e H_2 via hidrólise, acidogênese e acetogênese, enquanto as arqueas usam esses substratos para produzir metano (NARIHIRO; SEKIGUCHI, 2011; CHEN; HE, 2015). Já nos reatores aeróbios, os principais organismos envolvidos na degradação da matéria orgânica são as bactérias, protozoários, fungos, algas e vermes, sendo que os mais importantes para estabilizar matéria orgânica são as bactérias (DALTRO FILHO, 2004; SANT'ANNA JUNIOR, 2010; VON SPERLING, 2007a).

O sistema de tratamento anaeróbio se caracteriza como uma tecnologia sustentável de tratamento de resíduos que incluem a produção de metano como combustível renovável (DEMIREL *et al.*, 2010). Além disso, esse sistema apresenta baixo custo de implantação, manutenção e operação, além de apresentar baixa produção de lodo. No entanto, seu efluente muitas vezes não atende aos padrões de lançamento previstos na legislação brasileira, exigindo assim tratamento complementar para que esteja de acordo com os padrões exigidos (CHERNICHARO, 2001).

Um dos processos mais utilizados como pós-tratamento são os sistemas de lodos ativados com até 98% de eficiência na remoção de DBO solúvel, onde a massa biológica é continuamente circulada e colocada em contato com a matéria orgânica em presença de oxigênio proveniente de bolhas de ar injetadas por aeradores mecânicos (NUVOLARI, 2011). Nos flocos de lodos ativados e em outros aglomerados microbianos encontrados no processo aeróbio de tratamento de efluente, as bactérias facultativas se apresentam de forma majoritária (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Como exemplo, na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Universidade Federal de Sergipe, o tratamento dos esgotos é realizado por meio de sistema combinado: anaeróbio (UASB) seguido por aeróbio (vala de oxidação). O processo aeróbio ocorre no tanque de aeração, onde é introduzido ar com o objetivo de manter certa concentração de oxigênio dissolvido para conservar as condições necessárias para o crescimento dos micro-organismos aeróbios que farão a decomposição da matéria orgânica.

Quando o oxigênio é dissolvido no líquido ao líquido em concentrações adequadas, os micro-organismos passam a crescer em grande número, desde que o alimento existente no esgoto, que é outro fator limitante, esteja em grande quantidade, proporcionando assim condições adequadas para o desenvolvimento da biomassa ativa responsável pelo tratamento

do esgoto (NUVOLARI, 2011).

Nos processos de lodos ativados, o desempenho e a estabilidade dos sistemas de tratamento são afetados pela estrutura e pela diversidade microbiana. Desta forma, para melhorar a eficiência dos processos de estabilização da matéria orgânica, esforços têm sido feitos para compreender a ecologia microbiana e, como resultado, são registradas a quantificação e o acompanhamento dessas comunidades, usando técnicas de biologia molecular (WANG *et al.*, 2011; XIA *et al.*, 2014; FERRERA e SÁNCHEZ, 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho se propôs a caracterizar a microbiota presente no valo de oxidação utilizado como pós-tratamento do efluente do reator anaeróbio, uma vez que o funcionamento do processo e a estabilidade do sistema dependem em grande parte da composição e da atividade das comunidades microbianas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a microbiota presente no tanque de aeração que foi alimentado pelo efluente do reator UASB, empregado no tratamento dos esgotos da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a microbiota do valo de oxidação que funciona como pós-tratamento de efluente do reator anaeróbio;
- Realizar o monitoramento físico-químico do sistema combinado;
- Correlacionar os resultados do monitoramento físico-químico do valo de oxidação com os resultados da caracterização microbiológica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterização dos efluentes domésticos

Apesar dos esgotos serem compostos majoritariamente por água, é a pequena fração de sólidos (orgânicos, suspensos, dissolvidos) e micro-organismos que confere a necessidade de tratamento antes que o mesmo seja lançado nos corpos receptores (VON SPERLING, 2007b).

Vários fatores contribuem para a composição e concentração dos componentes dos efluentes domésticos. Os sólidos (suspensos e dissolvidos) podem variar de uma comunidade para outra a depender das condições socioeconômicas da população e a existência de possíveis lançamentos de efluentes industriais e comerciais na rede de esgotamento (MENDONÇA; MENDONÇA, 2016; GIANNAKIS *et al.*, 2016).

Alguns parâmetros indiretos traduzem o potencial poluidor do esgoto, podendo ser divididos em parâmetros físicos, químicos e biológicos, os quais fornecem os critérios indispensáveis para avaliar a eficiência dos sistemas de tratamento com base nas suas características (ISSA, 2019). Do ponto de vista químico, os efluentes domésticos contêm compostos orgânicos (carboidratos, proteínas e lipídios), nitrogênio (principalmente na forma de amônia) e fósforo; no entanto, há outros constituintes de natureza dissolvida ou particulada, como patógenos, metais, detritos minerais e plásticos, entre outros (DRINAN; SPELLMAN, 2015; ISSA, 2016).

Com escolha do sistema de tratamento adequado do esgoto, controle do processo e atividades de operação e manutenção da ETE, garante-se que o efluente lançado no corpo receptor esteja de acordo com as exigências ambientais. O padrão de lançamento é exigido pela Resolução n° 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes em geral e especificamente para os efluentes dos sistemas de tratamento de esgoto sanitário (BRASIL, 2011).

Algumas das exigências, encontradas no artigo 21 da Resolução 430 do CONAMA, indicam que os efluentes não poderão ser lançados nos corpos hídricos receptores se não forem obedecidas as exigências descritas no Quadro 1.

Quadro 1 - Parâmetros para o lançamento de esgoto em corpos hídricos conforme a Resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Parâmetro	Valor Limite
pH	5 - 9
Temperatura (°C)	< 40
DBO (mg/L)	< 120 ou remoção >60%
Sólidos sedimentáveis totais (mL/L)	< 1

Fonte: Brasil (2011)

3.2 Tratamento de Efluentes

Um dos principais objetivos das Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) é remover componentes orgânicos (carboidratos, proteínas e gorduras) presentes nos efluentes domésticos que, quando lançados no corpo receptor, estimulam o crescimento dos organismos heterótrofos que obtêm carbono de moléculas orgânicas, causando assim a redução das concentrações de oxigênio dissolvido (OD) que são necessárias para garantir a sobrevivência das diversas formas de vida que compõem o ambiente aquático (MARA; HORAN, 2003; GRADY JUNIOR. *et al.*, 2011; TOLOUEI, 2019).

Para atender a essa finalidade, as ETEs geralmente apresentam unidades de tratamento sequencialmente dispostas, onde ocorrem as operações de separações de fases (sólida, líquida e gasosa) e os processos de conversão dos poluentes em compostos que não apresentem riscos à saúde (inócuos) ou em substâncias que sejam separadas facilmente da corrente líquida (CALIJURI; CUNHA, 2013). Von Sperling (2007b) subdivide o tratamento nas seguintes etapas:

- Tratamento preliminar: Nessa etapa do tratamento são utilizados processos físico-químicos que removerão os materiais com maiores dimensões em suspensão do efluente por intermédio de grades. A remoção da areia é realizada por meio de um desarenador;
- Tratamento primário: As partículas sólidas de menores dimensões (matéria orgânica) são removidas pelos processos de floculação e/ou sedimentação;
- Tratamento secundário: Também conhecido como fase biológica, na qual a matéria orgânica e inorgânica é degradada por micro-organismos;
- Tratamento terciário: É definido como uma série de processos que têm a intenção de melhorar a qualidade do efluente oriundo das etapas anteriores, removendo assim os

nutrientes, as substâncias recalcitrantes e os organismos patogênicos, a exemplo da desinfecção. Este nível é também conhecido como tratamento avançado.

3.3 Princípios do tratamento biológico de esgoto sanitário

O tratamento biológico é um dos tipos mais comuns de tratamento de esgoto, o qual reproduz de forma controlada os processos naturais de purificação encontrados no corpo receptor, principalmente em relação à degradação da matéria orgânica pela ação de micro-organismos. Dependendo das condições ambientais e da atividade bacteriana, é possível, além de realizar a degradação de matéria carbonácea, incorporar processos de remoção de outros substratos, a exemplo da remoção de nitrogênio e de fósforo (TAVARES, 2017).

Para que aconteça o desenvolvimento e o crescimento das bactérias, é necessário que ocorra simultaneamente o processo de anabolismo (o material orgânico é transformado e incorporado na massa celular) e catabolismo (o material orgânico é utilizado como fonte de energia, sendo transformado em produtos estáveis) (VON SPERLING, 2007a).

No tratamento de águas residuárias, os processos biológicos podem estar submetidos a condições aeróbias, anaeróbias ou anóxicas, que se diferenciam quanto aos aceptores de elétrons. Os reatores biológicos, por sua vez, apresentam características distintas quanto ao tipo de mecanismo de crescimento biológico que pode ser aderido ou disperso, quanto ao fluxo que pode ser contínuo ou intermitente e quanto à hidráulica, que pode ser de mistura completa, fluxo de pistão ou fluxo arbitrário, podendo-se ter reatores aeróbios, anaeróbios, anóxicos ou mesmo combinados (MENDONÇA, 2002). O Quadro 2 apresenta, em ordem decrescente de liberação de energia, os aceptores mais importantes na oxidação da matéria orgânica no tratamento biológico de esgoto.

Quadro 2 - Aceptores de elétrons típicos das reações de oxidação no tratamento de esgoto.

Condição	Aceptor de elétrons	Forma do aceptor após a reação
Aeróbia	Oxigênio (O_2)	Água (H_2O)
Anaeróbia	Sulfato (SO_4)	Sulfeto (H_2S)
	Dióxido de carbono (CO_2)	Metano (CH_4)
Anóxica	Nitrato e nitrito (NO_3)	Nitrogênio gasoso (N_2)

Fonte: Adaptado de Von Sperling (2007b)

3.3.1 Remoção de matéria orgânica em condições aeróbias

O tratamento aeróbio tem o intuito de reproduzir o processo de degradação dos poluentes que ocorre nos sistemas aquáticos naturais de modo intensivo. Nesse processo de tratamento de esgotos, a comunidade microbiana utiliza a matéria orgânica como doadora de elétrons e o oxigênio molecular comoceptor final de elétrons (VON SPERLING, 2007a).

A oxidação da matéria orgânica inicial complexa e a transformação do poluente em compostos químicos mais simples (CO_2 e H_2O) são realizadas por meio da respiração aeróbia dos organismos que formam os flocos. Para garantir que os mesmos sejam densos e bem formados, é necessário haver um equilíbrio entre os grupos de bactérias que formam os flocos e as que formam filamentos (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Este processo é mais simples, rápido e com maior aproveitamento energético por parte da comunidade microbiana. No entanto, esse maior aproveitamento apresenta uma desvantagem com relação à grande geração de biomassa (lodo) no sistema, fazendo com que sejam necessárias etapas adicionais para tratar essa biomassa gerada (METCALF; EDDY, 2014; SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Dentre os processos aeróbios, o sistema de lodos ativados é o que apresenta maior eficiência e é um dos mais aplicados devido ao seu grande potencial de degradação da matéria orgânica (DEZOTTI, 2008). Geralmente, esse processo é amplamente utilizado em sua forma original, também chamado de sistema convencional; porém diversas variações também podem ser aplicadas a exemplo da aeração prolongada, aeração de alta taxa, reator sequencial por bateladas e valos de oxidação, entre outros (METCALF; EDDY, 2014).

3.3.2 Remoção de matéria orgânica em condições anaeróbias

No processo anaeróbio, a degradação da matéria orgânica complexa por parte dos micro-organismos ocorre em um ambiente sem a presença de oxigênio livre, sendo mais complexo que o aeróbio. Esse processo pode ser subdividido em quatro etapas (hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese), nas quais os mais diferentes gêneros de micro-organismos atuam e interagem (CHERNICHARO, 2007).

A biodigestão anaeróbia depende principalmente dos micro-organismos presentes no reator que deverão ser resistentes às variações do processo e estar adaptados ao tipo de afluente que alimentará o sistema (STETS, 2008). Dentre os grupos de micro-organismos empregados

no processo, os mais sensíveis são as arqueas, as quais são influenciadas pelo tipo de substrato, temperatura de operação do reator e condições hidráulicas (BANKS; HEAVEN, 2013).

O tratamento anaeróbio possui vantagens em relação ao tratamento aeróbio, podendo-se destacar a pequena produção de lodo, o que diminui o custo e as dificuldades de tratamento, transporte e disposição dos subprodutos do tratamento do esgoto (CAMPOS, 1999). As principais vantagens apontadas por Chernicharo (2007) são: a estabilidade do processo biológico, menores áreas de instalação, menor consumo de energia e potencialidade de utilizar o gás metano como combustível.

Apesar das vantagens, o processo anaeróbio apresenta um efluente com qualidade insuficiente para atender aos padrões de lançamento estabelecidos na legislação brasileira de corpos hídricos, tornando-se assim necessária a utilização de um pós-tratamento para complementar a remoção da matéria orgânica e dos nutrientes. Outra desvantagem é o tempo de partida dos processos anaeróbios que é muito mais lento que o dos processos aeróbios, além da necessidade de temperaturas relativamente elevadas, acima de 20°C (CHERNICHARO, 2007).

A utilização de sistemas combinados, em geral, anaeróbio seguido por aeróbio, é uma alternativa para o tratamento de águas residuais, pois contempla as potencialidades de ambos os processos, gerando menor quantidade de biomassa, utilizando menores áreas de instalação e, conseqüentemente, reduzindo os custos de tratamento e destinação final do lodo produzido, removendo além da matéria orgânica, nutrientes como fósforo e nitrogênio (GOULART, 2013).

3.4 Sistemas biológicos utilizados no tratamento de esgotos sanitários

3.4.1 Lodos ativados

Em 1914, Locket e Arden notaram que a aeração no tratamento secundário resultava na remoção do material orgânico e, de forma simultânea, formavam-se flocos de micro-organismos que, por meio de simples sedimentação, poderiam ser separados da fase líquida, obtendo assim o lodo biológico. Também foi verificado que o retorno deste lodo para a próxima batelada acelerava o processo de remoção, levando assim ao termo “lodos ativados” (SOUTO, 2017).

O processo de lodos ativados é o sistema biológico mais empregado no tratamento de águas residuárias do Brasil devido à grande versatilidade do sistema em função das suas diversas variantes, da necessidade de pequenas áreas (comparado com lagoas de estabilização) e também devido à eficiência de remoção de matéria orgânica, cuja remoção da Demanda

Bioquímica de Oxigênio (DBO) varia de 85 a 98%. Porém esse sistema necessita de um índice de mecanização superior ao de outros tratamentos, o que implica no maior consumo de energia elétrica e na necessidade de operação mais sofisticada, o que eleva os custos tanto de implantação quanto de operação (VON SPERLING, 2007c).

Esse sistema se baseia na manutenção de uma cultura mista de micro-organismos (bactérias, protozoários e fungos) que agem em conjunto, formando flocos que são mantidos em suspensão por meio da aeração mecânica dentro do reator para maximizar a decomposição de compostos orgânicos e inorgânicos (BASSIN, 2012). O conteúdo desse reator, chamado de licor misto, é constituído por água residual, micro-organismos, material coloidal e suspenso inerte, biodegradável e não biodegradável (BITTON, 2011).

Geralmente, os flocos presentes no sistema de lodos ativados são agregados de micro-organismos (bactérias filamentosas, fungos protozoários e metazoários), sólidos suspensos e compostos poliméricos, que desempenham um importante papel na operação das estações de tratamento e a biomassa formada no reator pode ser separada do efluente tratado por meio da gravidade (EIKELBOOM, 2000, CERVANTES; PAVLOSTATHIS; VAN HAANDEL, 2006).

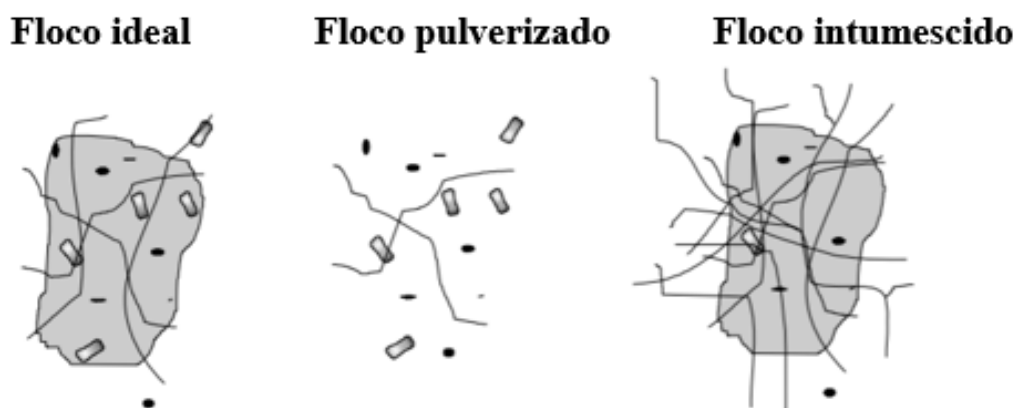
A base dos flocos são as bactérias formadoras de flocos e as filamentosas, cujos gêneros mais comuns são *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Citromonas* e *Zoogloea*, que podem ser identificadas por meio de métodos clássicos de isolamento e cultura e também por técnicas moleculares independentes de cultivo (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003, LECKIE, 2005).

Várias características dos flocos como o tamanho, a forma e a densidade determinam a eficiência do processo de separação sólido-líquido no decantador, o que pode afetar a qualidade do efluente (ASENSI *et al.*, 2019). Desta forma, o processo de sedimentação do lodo, os sólidos em suspensão no sobrenadante, a predação microbiana e a remoção de nutrientes são alguns fatores que estão ligados à estrutura dos flocos (SALEHIZIRI *et al.*, 2020).

Existem três tipos de flocos, os quais são influenciados pelos micro-organismos filamentosos (Figura 1). O floco ideal é aquele em que os organismos filamentosos crescem de forma equilibrada dentro do floco, propiciando um floco estruturado e denso. O floco pulverizado apresenta pouco ou nenhum organismo filamentoso, o que o torna um floco fraco e pequeno que pode ser facilmente rompido no processo de aeração, fazendo com que os pedaços menores permaneçam em suspensão e o efluente final apresente elevada turbidez. Já no floco intumescido predominam organismos filamentosos que crescem tanto dentro como fora dos flocos, interferindo na sedimentação do lodo, apesar do efluente tratado apresentar

baixa turbidez (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003; CAVALCANTI, 2016).

Figura 1 - Tipos de flocos biológico em sistemas de tratamento aeróbio.



Fonte: Von Sperling (2007c)

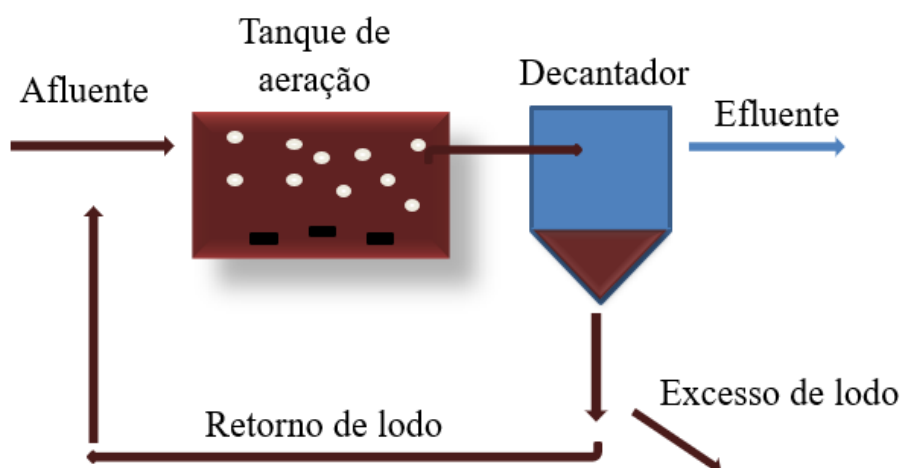
O sistema de lodos ativados realiza o tratamento do esgoto basicamente em duas etapas. Na primeira, ocorre a biodegradação dos poluentes por meio de micro-organismos presentes nos flocos contidos no tanque de aeração. Na segunda etapa, ocorre a separação da biomassa pelo processo de decantação (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Desta forma, o sistema é composto por três unidades básicas: reator aerado (tanque de aeração), decantador e sistema de recirculação do lodo (Figura 2). Na unidade de aeração, o ar é introduzido para fornecer o oxigênio necessário para a oxidação dos poluentes pelos micro-organismos e para misturar a água residuária a ser tratada com a biomassa. Outra etapa muito importante é a separação da biomassa do efluente tratado, pois assegura a produção de um efluente clarificado que será descartado geralmente em corpos de água receptores (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

A recirculação do lodo, no tanque de aeração, tem como objetivo tanto a mistura do esgoto, quanto a manutenção da concentração elevada de flocos, o que auxilia na estabilização da matéria orgânica pela ação dos micro-organismos que constituem os flocos (NUNES, 2012).

O processo de lodos ativados tem como ponto crítico a sedimentabilidade do lodo que, se não for adequada no tanque de aeração, não se atinge a necessária concentração de micro-organismos (JORDÃO; PESSÔA, 2014). Desta forma, o correto funcionamento do processo pode ser avaliado por meio do Índice Volumétrico de Lodo (IVL) que consiste em medir o volume ocupado pelo lodo após 30 minutos de sedimentação, expresso em mL, dividido pela massa de sólidos presente no teste (VON SPERLING, 2007c). O IVL é considerado adequado quando está situado na faixa entre 80 e 120 mL/g, já valores acima de 200 mL/g representam

um sistema com dificuldade de sedimentabilidade (SANT'ANNA JUNIOR, 2010). Entretanto outros autores apontam faixas recomendáveis de IVL diferentes, a exemplo de Jordão e Pessoa (2014) que estabelecem a faixa entre 40 e 150 mL/g e Grady Junior *et al.* (2011) que apresentam valores indicados na Tabela 1.

Figura 2 - Configuração de um sistema de lodos ativados.



Fonte: Autora (2020)

Tabela 1 - Relação entre o Índice Volumétrico de Lodo e as características de sedimentabilidade do sistema de lodos ativados.

Sedimentabilidade	Faixas de valores do IVL (mL/g)
Excelente	< 80
Moderada	80 – 150
Ruim	> 150

Fonte: Grady Junior. *et al.* (2011)

Existem algumas variantes desse sistema que podem ser divididas em lodos ativados convencional (fluxo contínuo), de aeração prolongada (fluxo contínuo) ou de fluxo intermitente (batelada) (COSTA NETO, 2016).

O sistema de lodos ativados convencional é constituído por reator e decantadores primário e secundário. Na unidade de decantação primária, parte da matéria orgânica em suspensão será removida antes de entrar no tanque de aeração. Já na unidade de decantação secundária, os sólidos que sedimentarem no fundo são recirculados para o reator por meio de

bombeamento. O tempo de detenção hidráulico no reator é de 6 a 8 horas e o lodo permanece no sistema de 4 a 10 dias. Nesse sistema, a entrada constante de nutrientes faz com que a população bacteriana cresça e se reproduza continuamente (VON SPERLING, 2016).

O processo de tratamento em bateladas sequenciais une todas as etapas associadas ao tratamento com lodos ativados em um único reator de forma sequencial e, desta forma, são requeridas menores áreas para sua construção. Como o lodo, nesse sistema, permanece no reator, não há necessidade de decantadores externos; entretanto a descontinuidade de agitação da biomassa na aeração exige um nível mais sofisticado de automação e manutenção (SILVA, 2017).

O sistema de lodos ativados com aeração prolongada é similar ao sistema convencional, com a diferença de que a biomassa irá permanecer no sistema por um período maior, entre 18 a 30 dias, o que torna necessário que os reatores tenham volumes maiores (CAVALCANTI, 2016). Desta forma, para uma mesma carga de matéria orgânica afluyente, haverá menor relação alimento e micro-organismo, fazendo com que os processos metabólicos dos micro-organismos sejam intensificados para estabilizar a matéria orgânica (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

O valo de oxidação é uma variante do processo de lodos ativados com aeração prolongada, que utiliza longos períodos de retenção de sólidos para a remoção dos poluentes (VON SPERLING, 2007c).

3.4.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB)

Os processos anaeróbios consistem em uma tecnologia sustentável para uma grande variedade de águas residuais (LETTINGA, 1995). As vantagens do uso desse sistema, quando comparado aos sistemas aeróbios, é o baixo consumo de energia por não ser necessário o uso de aeração, a produção do biogás e a baixa produção de lodo.

O reator *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) foi desenvolvido pelo professor Gatze Lettinga na década de 70 e é uma variação moderna dos sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes. É o sistema mais usado no tratamento anaeróbio, possui uma operação simples e área de instalação pequena. Este sistema remove elevadas concentrações de matéria orgânica e de sólidos em suspensão abaixo custo, devido à ausência de oxigênio no processo (SUBRAMANYAN; MISHRA, 2013).

O reator UASB consiste em um volume reacional de escoamento ascendente que é composto por duas zonas, uma de digestão e uma de sedimentação e um separador trifásico

(gás-sólido-líquido). O afluente é distribuído pelo fundo do reator e o efluente deixa o sistema na parte superior, logo após a decantação interna. A mistura do lodo (micro-organismos) e do esgoto é promovida pelo fluxo ascensional do esgoto e pelas bolhas de gás que favorecem a digestão anaeróbia da matéria orgânica (CHERNICHARO, 2007).

O separador trifásico é colocado no topo do reator para assegurar a separação eficiente entre a água residuária, biomassa e biogás, garantindo assim a sedimentação das partículas que auxilia na manutenção dos agregados do lodo no interior do reator que retornarão ao compartimento de digestão. O biogás, cujos principais constituintes são o CH₄ e CO₂, pode ser captado em dispositivo de coleta de gás posicionado na parte superior do sistema (LETTINGA *et al.*, 1980).

Os reatores UASB, apesar das vantagens, possuem algumas limitações, como a possibilidade de maus odores, baixa tolerância do sistema a cargas tóxicas, partida lenta do processo na ausência de inóculo e necessidade de um estágio de pós-tratamento (CHONG *et al.*, 2012).

3.4.3 Reatores combinados anaeróbio – aeróbio

A mudança nos setores produtivos, juntamente com os avanços tecnológicos, tem afetado diretamente as características físicas, químicas e biológicas do esgoto gerado. Dessa forma, deve ser estudado o tratamento ideal para reduzir os impactos causados ao meio ambiente (ARAÚJO, 2013).

Entre as diversas opções de tratamento, os sistemas combinados anaeróbio-aeróbio são cada vez mais recomendados devido à maior eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio e fósforo). Além disso, a combinação dos processos tem o objetivo de minimizar os aspectos negativos e aproveitar as vantagens de cada processo (ZAIAT, 2003).

A proposta de utilização do sistema de lodos ativados como pós-tratamento de reator anaeróbio do tipo UASB tem como principais vantagens a diminuição do volume do lodo (cerca de 40 a 50% menor que o sistema de lodo ativado convencional), a diminuição da demanda por degradação de matéria orgânica no tanque de aeração, já que cerca de 70% da DBO é removida no reator UASB e não há necessidade de decantador primário, uma vez que este é substituído pelo UASB (SANTOS, 2015).

Oliveira Netto (2011) avaliou o desempenho de um reator anaeróbio-aeróbio, em escala piloto, de escoamento ascendente e leito fixo, que operou de modo contínuo, com recirculação

da fase líquida aplicada ao tratamento de esgoto sanitário, contendo biomassa imobilizada em suporte inerte de espuma de poliuretano e argila expandida. O tempo de detenção hidráulico total (TDH) de 12 horas apresentou o melhor resultado, com eficiências médias de remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO), Nitrogênio Total Kjeldhal (NTK) e Sólidos Suspensos Totais (SST) de 92 %; 68 % e 75 %, respectivamente.

Kreutz (2012) também estudou um reator combinado anaeróbio-aeróbio de leito fixo (RAALF) e fluxo ascendente vertical, operado de modo contínuo em escala de bancada, para tratar efluente avícola e obteve como melhor resultado um TDH de 11 horas, apresentando eficiência de remoção para DQO bruta, DQO filtrada, ST, SST e nitrogênio os valores de 56%, 59%, 50%, 52% e 50% respectivamente.

3.5 Análise das comunidades microbianas

No Brasil, a maioria dos sistemas de tratamento de esgoto é monitorada e controlada apenas por análises físico-químicas. Apesar dos micro-organismos serem a chave do processo, a análise microbiológica é um instrumento pouco utilizado (Bento *et al.*, 2005; LAYER *et al.*, 2019). No entanto, devido à microfauna presente no meio ser extremamente sensível às alterações do processo, o controle por meio da análise microscópica do licor misto se torna uma ferramenta útil para conhecer o estado do reator, uma vez que permite indicar funcionamento inadequado do processo e prever de forma antecipada o seu aparecimento (ZHOU *et al.*, 2008).

No sistema de lodos ativados, alguns problemas associados a separação de sólido-líquido são causados ou pelo crescimento excessivo de bactérias filamentosas que reduzem a sedimentação e compactação do lodo, diminuindo assim a qualidade do efluente final, ou pela ausência dessas bactérias que irão gerar flocos frágeis que podem se desintegrar devido à turbulência proveniente do sistema de aeração do reator (HENZE *et al.*, 2008; SIGNORILE *et al.*, 2010).

Outro problema causado pelas bactérias filamentosas livres (como por exemplo nocardioformes e *Microthix parvicella*) é a formação de espumas persistentes e viscosas na superfície do reator que produz a diminuição do oxigênio, problemas com odor e a redução da qualidade final dos efluentes (SIGNORILE *et al.*, 2010; ZHANG *et al.* 2019a).

O conhecimento da estrutura microbiana bem como dos fatores que afetam o crescimento dos micro-organismos (pH, concentração de oxigênio, presença de substâncias tóxicas, nutrientes e micronutrientes e temperatura, entre outros) melhora a compreensão e o

controle do sistema de tratamento, uma vez que se torna possível manter as condições ideais para o aumento da eficiência de remoção do substrato (TOMONORI, 2001).

Para entender a biodiversidade e a atividade microbiana destas populações, é preciso identificar e quantificar os micro-organismos (SEVIOUR e NIELSEN, 2010). Várias técnicas podem ser utilizadas para avaliar a diversidade e a atividade microbiana, as quais são apresentadas a seguir.

3.5.1 Condições e fatores ambientais que limitam o crescimento dos micro-organismos

Os principais atributos que conferem eficiência ao tratamento biológico, garantindo a remoção da matéria orgânica, principalmente no sistema aeróbio, são a diversidade de micro-organismos que está presente no reator e a alta velocidade de crescimento das bactérias aeróbias, o que permite grande adaptabilidade às condições ambientais que, às vezes, podem ser adversas (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Porém, tanto a eficiência do sistema de tratamento quanto o crescimento das bactérias são afetados por vários fatores nutricionais (como a disponibilidade de substratos e nutrientes) e físico-químicos, que incluem pH, temperatura e resposta ao oxigênio molecular (GERARDI, 2006). A seguir são apresentados alguns intervalos de variações e razões numéricas recomendadas para o bom desempenho do sistema.

a) Temperatura

A eficiência do tratamento biológico é controlada pela atividade dos micro-organismos presentes no meio e está fortemente correlacionada com as mudanças de temperatura no reator. As variações de temperatura não só afetam as atividades biológicas como também têm forte impacto em outros fatores que são importantes para a sedimentação dos sólidos, como por exemplo a viscosidade do fluido e a solubilidade do oxigênio que é tão necessária para o desempenho dos processos aeróbios (NEDWELL, 1999; SHAHZAD; KHAN; PAUL, 2015).

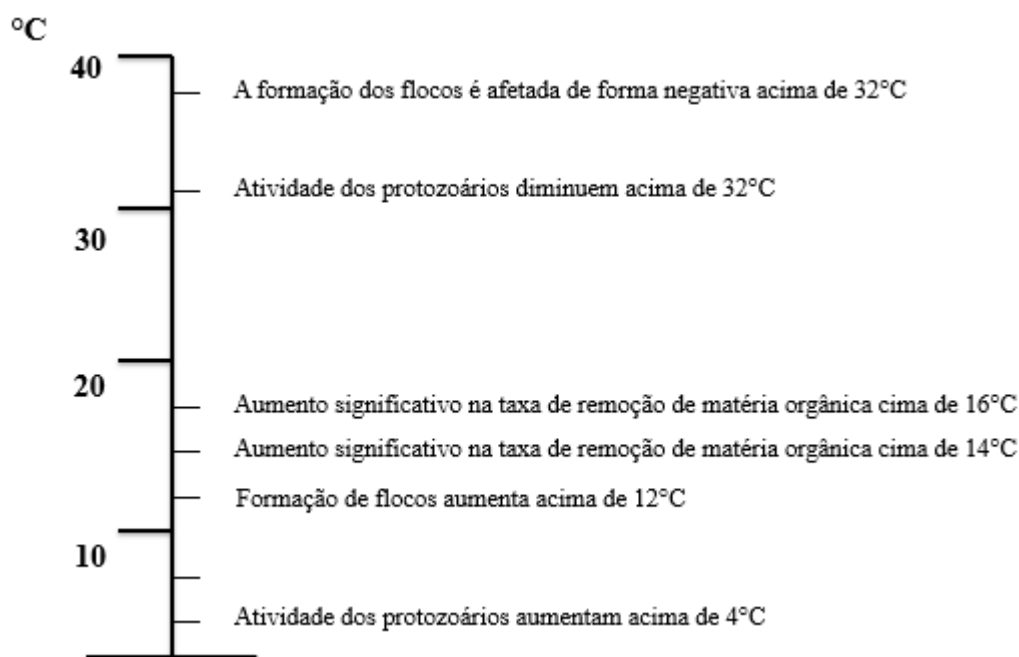
No tratamento biológico aeróbio, a temperatura afeta as reações que ocorrem para degradar substâncias como o nitrogênio total, amônia, fósforo e as reações para remover a DBO e DQO, uma vez que esses processos são realizados por micro-organismos sensíveis a variações de temperatura acima ou abaixo da ideal (AI *et al.*, 2019). A faixa de temperatura em que podem ser conduzidas essas reações é relativamente ampla, entre 10 e 40°C; entretanto, a velocidade do processo cresce entre 10 a 35°C, que seria a temperatura máxima de atividade microbiana (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Temperaturas próximas de 25°C fornecem condição ideal para o bom desempenho do sistema de lodos ativados, uma vez que aumenta significativamente a atividades das bactérias heterótrofas (FERRO, 2018). Na faixa de temperatura entre 40 e 45°C o desempenho do tratamento decai, devido ao limitado grupo de micro-organismos que consegue sobreviver nessa faixa de temperatura (GRADY JUNIOR. *et al.*, 2011).

O efeito da variação de temperatura em comunidades microbianas presentes no sistema de lodos ativados foi estudado por Ai *et al.* (2019) em escala laboratorial. Os resultados obtidos mostraram que temperaturas mais altas, entre 20 e 35°C, melhoraram as atividades de remoção de DQO, amônia e nitrogênio total.

A Figura 3 apresenta como as mudanças de temperatura fornecem impacto significativo na atividade dos micro-organismos, na estrutura e na velocidade de formação do floco.

Figura 3 - Impacto da temperatura na microbiota de sistema de lodos ativados.



Fonte: Gerardi (2002)

b) pH

O pH é um fator relevante para o desenvolvimento dos micro-organismos e, em comunidades heterogêneas, como nas encontradas no sistema aeróbio, a resposta às condições desfavoráveis, tanto de pH como ambientais, irá refletir no comportamento global e não somente de determinadas espécies (SANT'ANNA JUNIOR, 2010). De forma geral, as bactérias

heterótrofas apresentam uma faixa de atuação de pH entre 5,5 e 8,5, sendo a faixa ótima de crescimento próximo de 7,0 (GERARDI, 2006; BARROS JUNIOR, 2008).

c) Oxigênio dissolvido (OD)

Nos sistemas de lodos ativados, a aeração fornece para o sistema o oxigênio em concentração proporcional à intensidade de aeração (DING *et al.*, 2016). Sua concentração influencia nas propriedades de sedimentabilidade do lodo, estrutura dos flocos e na taxa de respiração microbiana (SURESH *et al.*, 2018).

Vários autores recomendam que seja mantido uma concentração mínima de 2 mg/L de OD (VON SPERLING, 2007c; SANT'ANNA JUNIOR, 2010; GRADY JUNIOR *et al.*, 2011). No estudo conduzidos por Fan *et al.* (2020) que avaliava a estrutura dos flocos de lodos ativados em diferentes condições de concentração de oxigênio, foi evidenciado que baixas concentrações de OD (menores que 2 mg/L) promovem a formação de lodos com baixa sedimentabilidade, devido o excessivo crescimento de bactérias filamentosas e a formação de flocos porosos.

Em outro trabalho, Wilén, Markiewicz e Nilsson (2010) reportaram que a qualidade do efluente e do lodo de estações de tratamento piora com concentrações de OD abaixo de 2mg/L em comparação com a concentração de 4 mg/L, que forneceu um melhor resultado. A concentração de OD a ser mantida no tanque de aeração pela NBR – 12.209 (ABNT, 2011) é apresentada na Quadro 3.

Quadro 3 - Concentrações mínimas de oxigênio requeridas para o correto funcionamento de sistemas aeróbios segundo a NBR – 12.209/2011.

Sistema	Valor mínimo de oxigênio no afluente no reator (kg O ₂ / kg DBO)
Lodos ativados sem nitrificação	1,5
Lodos ativados com nitrificação	2,5
Lodos ativados tratando efluentes de reatores tipo UASB	4,0

Fonte: ABNT (2011)

3.5.2 Análise de comunidades microbianas dependentes de cultivo

A avaliação da diversidade microbiana pode ser realizada por métodos tradicionais de

enriquecimento de culturas e isolamento seletivo para identificação de espécies microbianas.

Esses métodos identificam e detectam os micro-organismos com base em suas necessidades nutricionais, nas fontes de carbono, nas condições favoráveis de crescimento e na sua morfologia, pela observação em microscópio (KENNEDY, 1999).

O enriquecimento é um método já consagrado que se baseia no cultivo em meio seletivo. Para isso são escolhidos um meio e um conjunto de condições de incubação que sejam seletivos para os micro-organismos que se deseja analisar (AMMAN; LUDWING; SCHELEIFER, 1995).

O enriquecimento das culturas é iniciado pela coleta da amostra que irá conter os organismos de interesse. Em seguida é realizada a inoculação em meio seletivo que contém os nutrientes necessários, para então ser realizada a incubação em condições específicas, a exemplo do pH e temperatura (KENNEDY, 1999).

Um enriquecimento negativo pode ocorrer quando o organismo-alvo não se encontra na amostra coletada ou quando as condições para o cultivo não são adequadas. É necessário destacar que as culturas de enriquecimento podem apenas comprovar se o organismo-alvo está presente em um determinado ambiente, porém as mesmas não fornecem informações sobre a sua importância ecológica ou sua abundância (MADIGAN *et al.*, 2016).

Vários trabalhos usaram essa técnica para avaliação da qualidade microbiológica a exemplo de Mendonça (2002) que quantificou as bactérias heterótrofas encontradas em um sistema de lodos ativados operado como pós tratamento de efluente anaeróbio em escala piloto e utilizou meios de cultura seletivos para cada micro-organismo de interesse. Como resultado foi obtido pela autora concentração de bactérias heterótrofas variando entre 10^9 a 10^{12} UFC/mL.

Os métodos de isolamento são usados frequentemente para obter uma cultura purificada, ou seja, uma cultura que contenha um único tipo de micro-organismo. Para isso, algumas das técnicas incluem semeadura por esgotamento, semeadura em profundidade em meios sólidos e a diluição líquida. Essas técnicas têm a característica de, a partir da coleta, semear repetidas vezes para obter uma cultura pura (MADIGAN *et al.*, 2016).

3.5.3 Análises microscópicas de comunidades microbianas independentes de cultivo

Com o avanço científico nos últimos anos, é possível analisar as comunidades microbianas empregando métodos moleculares independentes de cultivos (LECKIE, 2005).

Para determinar a abundância relativa de um determinado micro-organismo podem ser

usados corantes celulares que auxiliam na obtenção dos dados. Também podem ser utilizadas estratégias que analisam regiões específicas de DNA ou RNA, extraídos diretamente das amostras (RANJARD *et al.*, 2000).

Vários métodos de coloração, a exemplo da coloração fluorescente com corantes que se ligam a ácidos nucleicos, são adequados para quantificar os micro-organismos em amostras naturais. Esses corantes fluorescentes podem ser utilizados na coloração de micro-organismos que estão presentes em praticamente qualquer habitat microbiano (MADIGAN *et al.*, 2016).

Também é possível utilizar sonda de ácido nucleico complementar a uma sequência-alvo de um gene que, quando se misturam, hibridizam (MADIGAN *et al.*, 2016). Essa técnica é chamada de Hibridização *in situ* Fluorescente (*Fluorescence in situ Hybridization* - FISH).

3.5.4 Análises genéticas de comunidades microbianas independentes de cultivo

Em grande parte dos estudos relacionados à biodiversidade microbiana, genes específicos são usados como medida da biodiversidade a partir da análise de fragmentos específicos de rRNA 16S (MADIGAN *et al.*, 2016). A reação em cadeia da polimerase, conhecida por *Polimerase Chain Reaction* (PCR), é a principal técnica utilizada neste tipo de análise.

A PCR é uma ferramenta que permitiu o desenvolvimento de protocolos altamente sensíveis e específicos para detecção e/ou quantificação de micro-organismos, tendo como princípio básico a ampliação de uma sequência alvo de DNA por meio da reação em cadeia de polimerase que, em linhas gerais, se baseia na capacidade que iniciadores específicos (*primers*) têm de se unir com a sequência gênica desejada por meio da complementaridade de bases (BASSIN; DEZOTTI; ROSADO, 2011).

Outra técnica contemporânea extremamente útil para identificar micro-organismos de forma confiável e rápida é a espectrometria de massa que utiliza a Ionização por Dessorção a Laser Assistida por Matriz, conhecida por *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization* (MALDI), como forma de ionização, e o tempo de voo, representado por *Time of Flight* (TOF), como separador de massas e cargas. O MALDI-TOF fornece como resultado um padrão característico para os micro-organismos em análise, de modo a criar uma assinatura do mesmo que será analisado por um banco de dados que contém espectros de massa conhecidos, sendo a identificação realizada por comparação entre o perfil proteico desconhecido e o do banco de dados de espectros de referência (SANTOS; HILDENBRAND; SCHUG, 2016).

O uso do MALDI-TOF ganhou popularidade devido a seu baixo custo e simplicidade

de manuseio (PATIL *et al.* 2015; SANTOS; HILDENBRAND; SCHUG, 2016). Antunes, Ballarini e Sand (2019) usaram essa técnica para avaliar a comunidade microbiana presente no sistema de tratamento que consistia em lodos ativados e lagoas facultativas. Já Kopcakova *et al.* (2014) usaram para identificar bactérias presente em efluente industrial.

3.6 Considerações sobre a análise microbiana

A análise microbiana fornece resultados a respeito da qualidade do tratamento de efluentes, uma vez que monitora as comunidades pela sua identificação, permitindo encontrar, por exemplo, para os sistemas de lodos ativados, as causas de sedimentação deficiente por meio da identificação de micro-organismos filamentosos (EIKELBOOM, 2000). Danos à morfologia do organismo analisado podem indicar composição inadequada do efluente ou alterações das condições operacionais do reator (DRZEWICKI; KULIKOWSKA, 2011).

Também é possível concluir sobre a qualidade do lodo do licor misto, que pode ser expressa como “boa”, “moderado”, ou “ruim” com base na quantidade de micro-organismos encontrados e nas suas características (Quadro 4) (EIKELBOOM, 2000).

A depender do tipo de micro-organismo encontrado, pode-se especificar que (MICHALKIEWICZ, 2010 apud SOWINSKA *et al.*, 2018):

- a) O bom estado de funcionamento dos lodos ativados é caracterizado por:
 - Elevada concentração de protozoários ciliados (livres ou fixos);
 - Elevada concentração de bactérias *Bacillus*, *Flavobacteria*, *Pseudomonas* e zoogloea.
- b) Uma condição intermediária de funcionamento dos lodos ativados é caracterizada por:
 - Presença de nematoides;
 - Poucos flagelados e amebas;
 - Ausência de fungos e bactérias filamentosas.
- c) O mau estado de funcionamento dos lodos ativados é caracterizado por:
 - Presença de bactérias filamentosas, flagelados, amebas e fungos;
 - Baixa frequência de ciliados.

Quadro 4 - Frequência de aparecimento dos micro-organismos para avaliar a qualidade do lodo do licor misto.

Predominância	Boa	Moderado	Ruim
Filamentos	< 3	3 – 4	4 – 5
Células livres	0 – 1	2 – 3	≥ 3
Ciliados/ tecamebas	≥ 2	1	0
Flagelados/ amebas	0	1 – 2	≥ 3

Escala qualitativa de frequência: (0) nenhuma; (1) rara; (2) comum; (3) muito comum; (4) abundante

Fonte: Adaptado de Eikelboom (2000)

A frequência de aparecimento de determinados grupos encontrados na microfauna presente no tanque de aeração também é usada como indicativo de desempenho do sistema (Quadro 5). Com base nessa análise, foi possível que Cordi *et al.* (2012) correlacionassem a microbiota com o parâmetro operacional de um reator de lodos ativados tratando efluente de papel e celulose, obtendo como resultado a presença predominante de rotíferos, ciliados e tecamebas, o que levou a concluir que houve uma excelente capacidade de descontaminação no sistema, obtendo excelente qualidade do efluente final tratado.

O exame microscópico dos lodos ativados é útil também para determinar a condição física dos flocos compostos por micro-organismos, responsáveis por estabilizar a matéria orgânica e por micro-organismos filamentosos que são responsáveis por promover resistência e suporte ao floco (CAVALCANTI, 2016). Um desequilíbrio na composição dos flocos, promovido pela abundância de alguns tipos de organismos filamentosos, fornece informações a respeito do comportamento do sistema com relação à separação dos sólidos que será prejudicado pela falta de sedimentação do lodo (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

Quadro 5 - Frequência das espécies presentes na microfauna de lodos ativados.

Protozoário		Frequência das espécies	Significado da presença desta microfauna
Flagelados	Pequenos flagelados de movimento lento	Rara	Predominância significa deficiência de oxigênio ou sobrecarga de matéria orgânica
	Ameba	Muito frequente	Predominância significa sistema bem oxigenado com boa remoção de carbono
Amebas	<i>Arcella</i>	Moderadamente frequente	A presença indica bom desempenho no processo de tratamento
	<i>Diffflugia</i>	Rara	A presença indica mineralização do lodo
Ciliados	<i>Aspidisca</i>	Muito frequente	A presença indica processo de nitrificação
	Carchesium	Rara	Efluente com boa qualidade
	<i>Epistylis</i>	Moderadamente frequente	Lodo altamente concentrado e com bom tratamento da carga orgânica
Tartígrados		Rara	Indica boa qualidade do tratamento

Fonte: Adaptado de Hamaidi-Chergui (2016)

Alguns micro-organismos são considerados indicadores das condições do processo de lodos ativados. O manual da CETESB sobre a microbiologia de lodos ativados apresenta os principais micro-organismos do lodo, relacionando-os com as características do processo (Quadro 6). Madoni (1994) também desenvolveu algumas relações entre os micro-organismos dominantes e as características e desempenho do processo que estão apresentadas no Quadro 7.

Quadro 6 - Micro-organismos indicadores das condições de depuração de lodos ativados.

Micro-organismo	Características do processo
Predominância de flagelados e rizópodes	Lodo jovem, característico do início da operação ou idade do lodo baixa
Predominância de flagelados	Deficiência de aeração, má depuração e sobrecarga orgânica
Predominância de ciliados pedunculares e livres	Boas condições de depuração
Predominância de <i>Epistylis</i> (pedunculados) e rotíferos	Transição biológica, desempenho crescendo
Predominância de ciliados livre-nadantes	Fase inicial de operação, durante a formação de flocos. A predominância em lodo bem formado indica anomalias como sobrecarga ou pouca oxigenação
Presença de <i>Arcella</i> (rizópode com teca)	Boa depuração
Presença de <i>Aspidisca costata</i> (ciliado livre)	Nitrificação, lodo ideal
Presença de <i>Trachelophyllum</i> (ciliado livre)	Idade do lodo elevada
Presença de <i>Vorticella microstoma</i> (ciliado peduncular) e baixa concentração de ciliados livres	Efluente de má qualidade
Predominância de anelídeos do gênero <i>Aelosoma</i>	Excesso de oxigênio dissolvido
Predominância de filamentos	Intumescimento do lodo ou <i>bulking</i> filamentoso

Fonte: Vazollér *et al.* (1989)

Quadro 7 - Indicadores do desempenho do sistema de tratamento por meio de grupos dominantes encontrados na microfauna.

Grupo dominante	Desempenho	Possíveis causas
Pequenos flagelados	Fraco	Deficiência de aeração, choques devido à sobrecarga e à presença de subprodutos da fermentação
Ciliados livre nadantes	Médio	Deficiência de aeração, baixo tempo de detenção hidráulica
Ciliados livre nadantes	Médio	Choques devido à sobrecarga e à deficiência de aeração
Ciliados predadores de flocos	Bom	-
Ciliados fixos e ciliados predadores de flocos	Bom	-
Ciliados fixos	Decrescendo	Fenômeno de transição
Pequenas amebas e flagelados	Muito fraco	Alta carga de compostos difíceis de serem degradados
Tecameba	Bom	-

Fonte: Madoni (1994)

3.7 Micro-organismos de importância para o sistema de tratamento biológico

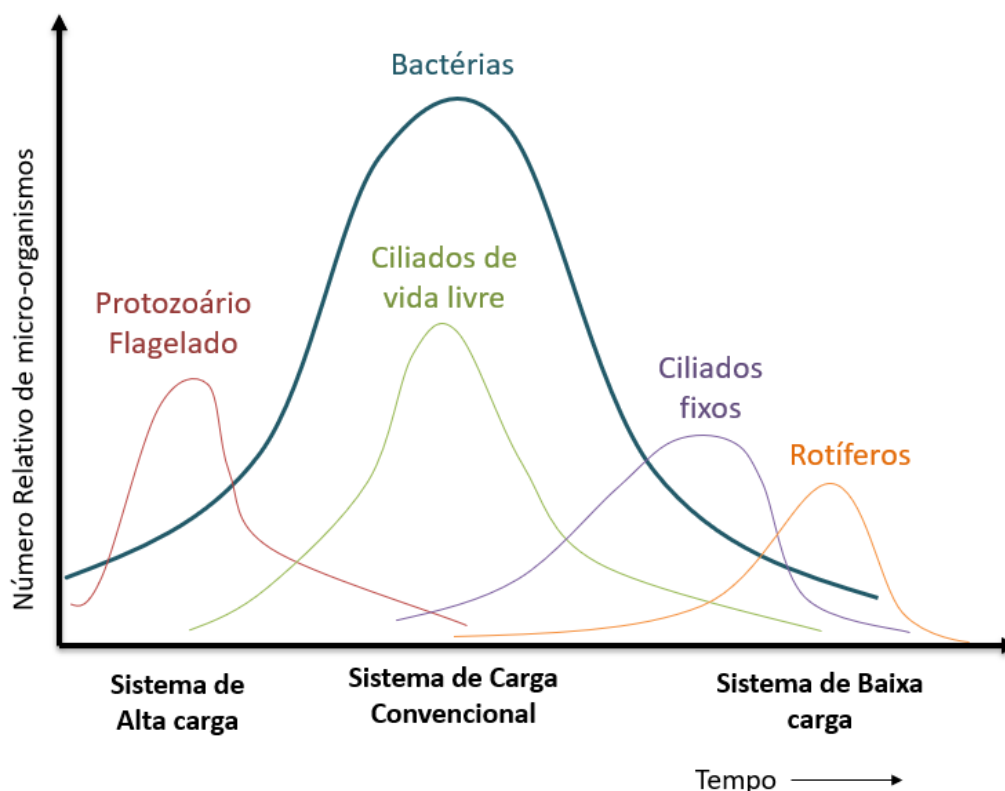
A microscopia ótica permitiu o descobrimento de um mundo aparentemente invisível com a ampliação da capacidade de visão dos seres humanos. Com o auxílio do microscópio, é possível identificar diversos micro-organismos que desempenham papel importante na reciclagem dos nutrientes no meio ambiente e são os principais agentes dos processos biológicos de tratamento de efluentes, assegurando assim a degradação de diversos poluentes (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Dos organismos microscópicos, as bactérias desempenham importante papel no processo de tratamento dos efluentes. Já os protozoários e alguns metazoários, que possuem maior complexidade celular, podem ser vistos com o uso de aumentos menores no microscópio (GERARDI, 2006).

As interações ecológicas na comunidade microbiana causa o aumento da população de um grupo de micro-organismos, seguido pelo declínio de outro grupo. Imediatamente após ser lançado o efluente no reator, a matéria orgânica encontra-se em seu ponto máximo e nesse momento podem ser encontrados protozoários como amebas e flagelados. Devido à grande

disponibilidade de alimento, a quantidade de bactérias tende a crescer e as amebas começam a ser substituídas pelos protozoários flagelados que são mais eficientes na competição pelo alimento. Com o decréscimo da matéria orgânica, os protozoários flagelados são substituídos pelos ciliados e as bactérias são consumidas tanto pelos rotíferos quanto pelos ciliados (VON SPERLING, 2007a). Essa sequência relativa de predominância é característica de tratamento aeróbio e pode ser visualizada na Figura 4.

Figura 4 - Sequência de predominância relativa dos principais micro-organismos envolvidos no tratamento aeróbio em função do tempo.



Fonte: Von Sperling (2007a)

É de extrema importância a investigação microscópica da comunidade microbiológica para avaliar os possíveis fatores que podem afetar de forma positiva ou negativa a estabilidade do sistema (SOUTO, 2017). Essas comunidades heterogêneas, quando envoltas por uma matriz polimérica extracelular que constitui uma rede gelatinosa que imobiliza e protege as células, tem a capacidade de se aderir a superfícies, formando assim os biofilmes (OLIVEIRA; BRUGNERA; PICOLLI, 2010; RAMOS, 2018).

Vários grupos microbianos fazem parte da comunidade presente nos biofilmes. Um

destes grupos são as arqueas, que em reatores anaeróbios, são especializadas em produzir metano ao utilizar um número limitado de substratos (principalmente acetato) que são os produtos finais de substratos mais complexos que foram degradados por bactérias fermentativas. Além desse grupo, também fazem parte as bactérias aeróbias e facultativas, os fungos, as algas e os protozoários (Quadro 8).

Quadro 8 - Micro-organismos e macro-organismos invertebrados comumente encontrados em filtros biológicos percoladores.

Grupo		Gênero predominante
Bactérias heterótrofas	Oxidantes de matéria orgânica	<i>Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Alcaligenes Sphaerotilus, Thiotrix</i>
	Oxidantes de sulfeto	<i>Beggiatoa</i>
Bactérias autótrofas	Oxidantes de amônia	<i>Nitrossomonas, Nitrosococcus Nitrospira, Nitrosovibrio Nitrosolobulus</i>
	Oxidantes de nitrito	<i>Nitrobacter, Nitrospira Nitrospina, Nitrococcus Nitrocystis</i>
Fungos		<i>Fuzasium, Penicillium Geotrichum, Sporotrichum Ascoidea, Trichosporon</i>
Algas e cianobactérias		<i>Phormidium, Chlorella Ulothrix, Euglena Chlorella, Anacystis Oscillatoria, Stigeoclonium</i>
Protozoários		<i>Vorticella, Opercularia Epistylis, Carchesium Chilodonella</i>
Metazoários		Rotíferos e Nemátodos em geral Artrópodes: <i>Psycoda, Sylvicola</i>

Fonte: Almeida (2012)

3.8 Microbiologia de lodos ativados

A microbiota do sistema de lodos ativados é composta de diversas comunidades microbianas procariotas e eucariotas, que são os principais responsáveis pela bioconversão e remoção de poluentes (VUONO *et al.*, 2015). Esse ecossistema seminatural está sujeito a constantes flutuações, a depender principalmente da composição do efluente, o que afeta o desempenho

do processo de tratamento do esgoto (NAVARRO *et al.*, 2016)

Os componentes bióticos desse sistema são representados por diversos tipos de micro-organismos decompositores que utilizam a matéria orgânica dissolvida, e por micro-organismos consumidores como protozoários e metazoários que se alimentam de bactérias dispersas e outros organismos (MADONI, 1994).

Uma melhor compreensão da complexa ecologia microbiana dos lodos ativados pode fornecer valiosas informações para melhorar a eficiência do tratamento. A seguir são apresentados alguns grupos de micro-organismos de interesse para esse sistema (FERRERA; SÁNCHEZ, 2016).

a. Arqueas

Dentre os grupos de micro-organismos que compõe o sistema de lodos ativados, as arqueas são os menos conhecidos. Esse grupo encontra-se presente principalmente nos reatores de digestão anaeróbia, amplamente utilizado para reduzir a quantidade de lodo que é gerada nas estações de tratamento. Apesar de terem menor importância na remoção de carbono e nitrogênio, também estão presentes nos lodos ativados (FREDRIKSSON; HERMANSSON; WILÉN, 2012).

No estudo realizado por Fredriksson, Hermansson e Wilén (2012), foi apresentado que as arqueas têm outras possíveis funções que afetam as propriedades de lodos ativados, como a possibilidade de aumentar tanto as atividades biológicas de nitrificação e desnitrificação em biorreatores com aeração intermitente quanto a mineralização da matéria orgânica. Além disso, também contribuem na formação da estrutura dos flocos.

b. Bactérias

A forma de vida mais simples é representada pelas bactérias, os organismos mais numerosos no que diz respeito à quantidade de espécies. Além de serem unicelulares procariotas (ausência de núcleo definido), podem apresentar-se isoladamente ou em colônias. Quanto à forma, são classificadas como esférica, bastonete ou espiralada (GERARDI, 2006).

A maioria das bactérias presentes no sistema de lodos ativados é Gram-negativa e quimio heterotróficas, uma vez que a partir do consumo de compostos orgânicos oxidam a matéria orgânica a dióxido de carbono e água, utilizando o oxigênio molécula como aceptor (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

Estes organismos desempenham papel vital nas mudanças químicas que ocorrem no

metabolismo de grande variedade de compostos orgânicos, além de também serem responsáveis pela remoção de nitrogênio e fósforo (SEVIOUR; NIELSEN, 2010). Geralmente podem ser agrupadas com base no seu papel no processo de purificação como heterótrofas, autótrofas nitrificantes (bactérias oxidantes de amônia e de nitrito) e desnitrificantes (autótrofas e heterótrofas).

As bactérias heterótrofas são as principais responsáveis pela redução de carbono e são o grupo mais abundante no sistema. Já a remoção de nitrogênio é baseada nos processos de nitrificação onde a amônia é oxidada em nitrito e depois em nitrato, para então ser transformada em nitrogênio gasoso na etapa de desnitrificação.

No sistema de lodos ativados frequentemente são encontradas cerca de mais de 10^6 bactérias por mL de esgoto (HORAN, 1990 *apud* TORRES, 2005). Baseado no procedimento de coloração DAPI (4',6'-diamino-2-fenil-indol) que confere fluorescência ao DNA, estima-se que o número de bactérias esteja na faixa de 1×10^{12} a 10×10^{12} por grama de sólidos suspensos voláteis, sendo que a porcentagem de células metabolicamente ativas está em torno de 80% da contagem total (SEVIOUR; NIELSEN, 2010). Em estudo conduzido por Francisco, Alpoim e Moraes (2002) para avaliar a diversidade microbiana de lodos ativados, no centro de Portugal que recebia esgoto doméstico e industrial foi observado um total de $4,6 \times 10^6$ UFC/gSSV de bactérias heterótrofas (unidade formadora de colônias por grama de sólidos suspensos voláteis).

Os principais gêneros de bactérias que são comumente encontradas nos sistemas de lodos ativados estão listados no Quadro 9, já as funções dos principais gêneros são apresentadas no Quadro 10.

Vários estudos recentes como o de Wang *et al.* (2019) e Gómez-Acata *et al.* (2017) indicam que o grupo de bactérias que predomina nos sistemas de lodos ativados é a *Proteobacteria*, sendo as principais responsáveis pela remoção matéria orgânica e nutrientes, como o nitrogênio e o fósforo.

Os gêneros mais abundantes de bactérias oxidantes de amônia encontrados por Nielsen *et al.* (2010) e Muszyński (2013) foram *Nitrosospira* e *Nitrosomonas*. Já para o grupo de bactérias oxidantes de nitrito, o gênero dominante foi *Nitrospira*, porém também foram encontrados os gêneros *Nitrobacter*, *Nitrococcus* e *Nitrospina*.

Quadro 9 - Gênero de bactérias encontradas comumente em lodos ativados.

Principais gêneros		Outros gêneros
<i>Alcaligenes</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Acinetobacter</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Aeromonas</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Flecibacter</i>	<i>Aerobacter</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Cytophaga</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Spaerotillus</i>	<i>Gluconobacter</i>
<i>Citromonas</i>	<i>Zoogloea</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
<i>Chromobacterium</i>		<i>Micrococcus</i>
<i>Comomonas</i>		<i>Spirillum</i>

Fonte: Lester e Birkett (1999)

Quadro 10 - Principais gêneros e funções de bactérias encontradas em lodos ativados.

Gênero	Função
<i>Acinetobacter</i>	Remoção de fósforo
<i>Achromobacter</i>	Desnitrificação
<i>Arthrobacter</i>	Degradação de carboidratos
<i>Bacillus</i>	Degradação de proteínas
<i>Microthrix</i>	Degradação de gordura (crescimento filamentoso)
<i>Nitrobacter</i>	Nitrificação
<i>Nitrosomonas</i>	Nitrificação
<i>Nocardia</i>	Formação de espuma e escuma (crescimento filamentoso)
<i>Zoogloea</i>	Produção de muco (formação de floco)

Fonte: Horan (1990) *apud* Torres (2005)

As bactérias desnitrificantes são predominantemente heterótrofas. Nas estações de tratamento, as betaproteobactérias dos gêneros *Thauera*, *Azoarcus*, *Zoogloea*, *Curvibacter* e *Accumulibacter* são as principais bactérias desnitrificantes encontradas (NIELSEN *et al.*, 2010).

O tipo deceptor de elétrons usado pelas bactérias também é uma característica importante, sendo o oxigênio o tipo mais relevante nas operações bioquímicas. As bactérias que utilizam apenas o oxigênio são chamadas de aeróbias e as que não utilizam são chamadas de

anaeróbias. Entre os dois extremos, estão as bactérias facultativas que usam oxigênio como aceptor apenas quando o mesmo está presente em concentração suficiente, porém pode mudar de aceptor na sua ausência. Nos sistemas de tratamento, esse tipo de bactéria tende a ser predominante, uma vez que os flocos e biofilmes em operações bioquímicas variam entre aeróbios a anaeróbios (GRADY JUNIOR. *et al.*, 2011).

Nos processos de lodos ativados, a concentração de oxigênio necessária para garantir uma atividade biológica aceitável por meio das bactérias aeróbias e facultativas apresenta três níveis que devem ser observados (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentração de oxigênio necessário nos processos de lodos ativados.

Atividade Biológica	Concentração mínima (mg/L)
Respiração endógena	0,8
Formação dos flocos	1
Nitrificação	2 – 3

Fonte: Gerardi (2006)

Em condições ótimas, a duplicação de bactérias heterótrofas aeróbias não é limitada, sendo assim a taxa de crescimento desses micro-organismos será máxima. No entanto, nas estações de tratamento, o crescimento desses micro-organismos é influenciado por uma variedade de fatores nutricionais (disponibilidade de substratos e nutrientes) e físicos (pH e temperatura) (LESSARD; Le BIHAN, 2003).

As bactérias têm um pH ótimo no qual crescem melhor. Para a maioria das bactérias, esse valor é quase neutro (próximo a 7), sendo que as mesmas não toleram valores de pH abaixo de 4 ou acima de 9,5, a depender do ambiente. A maioria das unidades de tratamento opera com valores próximos do neutro (6,8 a 7,2); no entanto, podem apresentar problemas operacionais com valores de pH abaixo ou acima do neutro (GERARDI, 2006).

Em função da faixa de temperatura, as bactérias podem ser classificadas como psicrófilas, mesófilas ou termófilas (Tabela 3). Apesar da faixa de temperatura de cada categoria ser ampla, temperaturas abaixo da ótima têm mais influência na taxa de crescimento do que acima da ótima (VON SPERLING, 2007b). Dentre esses tipos de bactérias, em função da temperatura ótima de desenvolvimento, são as mesófilas que se encontram em maior quantidade nos processos de lodos ativados e nos digestores anaeróbios.

Tabela 3 - Faixas de temperatura típicas para o desenvolvimento ótimo das bactérias classificadas como psicofílicas, mesofílicas e termofílicas.

Tipo	Temperatura	
	Ótima	Faixa
Psicofílicas	12 a 18	-10 a 30
Mesofílicas	25 a 40	20 a 50
Termofílicas	55 a 65	35 a 75

Fonte: Metcalf; Eddy (2014)

No geral, dentre os gêneros de bactérias comumente encontrados, podem ser destacados: *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Citromonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Brevibacterium*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Sphaerotilus*, *Soogle*, *Beggiatoa*, *Nocardia*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

c. Fungos

Os fungos, geralmente, são organismos saprofíticos, classificados pelo seu modo de reprodução e apresentam morfologia distinta. A maioria é estritamente aeróbia e pode tolerar ambientes ácidos e baixas concentrações de nitrogênio. Nos processos de reciclagem de nutrientes e na biodegradação de compostos orgânicos em ambientes naturais, demonstram notável participação (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Nos sistemas de lodos ativados, a estrutura e as funções da comunidade fúngica ainda não foi bem estudada (NIAZI *et al.* 2015). No entanto a análise de sua estrutura com base nos genes 18S rDNA pode revelar a presença de fungos que não podiam ser detectados por exame microscópico, porém suas funções metabólicas nos sistemas de lodos ativados ainda não foram completamente esclarecidas (MATSUNAGA; KUBOTA; HARADA, 2014, EVANS; SEVIOUR, 2012).

Os fungos são contribuintes potenciais para importantes funções no sistema de tratamento, uma vez que estão envolvidos na biodegradação de compostos orgânicos, na formação dos flocos dos lodos ativados e na remoção de substâncias tóxicas presentes em efluentes industriais (PURNOMO *et al.*, 2014).

Assim como as bactérias, os fungos podem causar alguns problemas no sistema de tratamento, a exemplo dos fungos filamentosos que crescem formando micélios e podem causar intumescimento do lodo e excesso de espuma (NIU *et al.*, 2017); mas também podem

predominar no sistema quando há acentuada queda do pH e deficiência de nitrogênio (VAZOLLÉR *et al.*, 1989). O pH ótimo para desenvolvimento destes micro-organismos situa-se em torno de 5,6 para a maioria das espécies e a concentração de nitrogênio exigida para o seu crescimento é metade da necessária para as bactérias (MCKINNEY, 2004).

Os fungos mais abundantes e comumente encontrados nos sistemas de lodos ativados são o *Geotrichum*, *Penicillium*, *Pluteus*, *Wickerhamiella*, *Cryptococcus* e as leveduras (AWAD; KRAUME, 2011, NIU *et al.*, 2017).

d. Protozoários

Os protozoários desempenham um significativo papel nos sistemas de lodos ativados, com mais de 218 espécies já identificadas (HU *et al.*, 2013). Alimentam-se de matéria orgânica particulada, bactérias ou outros protozoários e seu crescimento é mais lento do que o das bactérias. A concentração desses organismos no licor misto varia de acordo com o tipo de efluente e as condições de aeração, podendo alcançar 3 a 20×10^6 células/mL (MADONI, 2011).

Os protozoários atuam como polidores dos efluentes nos processos biológicos, uma vez que consomem bactérias e a matéria orgânica particulada. Essa ação predadora sobre pequenas partículas de lodo asseguram a clarificação do sobrenadante produzido quando ocorre a separação da biomassa da fase líquida.

Podem ser divididos em quatro grupos: ciliados (livres, fixos e rastejantes), flagelados, ameba e tecameba, os quais serão apresentados a seguir.

• Flagelados

Os organismos flagelados podem possuir um ou mais flagelos. São heterótrofos e se alimentam principalmente de bactérias livres ou compostos orgânicos solúveis (SEVIOUR; NIELSEN, 2010).

Entre os gêneros comumente encontrados, destacam-se *Bodo*, *Peranema*, *Entosiphon*, *Euglena* e *Notosolenus*. Apesar de serem frequentemente encontrados no sistema de tratamento, geralmente não são correlacionados com a eficácia do processo (PARADA-ALBARRACÍN; PÉREZ; GÓMEZ, 2017); no entanto, podem ser relacionados a determinadas condições de operação do processo biológico (VAZOLLÉR *et al.*, 1989).

• Amebas e tecamebas

As amebas são organismos unicelulares que possuem membrana celular flexível, permitindo

assim que tanto o seu formato quanto o seu tamanho (10 a 200 μm) possam apresentar constantes mudanças (EIKELBOOM, 2000). Quase sempre são encontradas nos sistemas de lodos ativados, pois, além de apresentarem bom crescimento em matéria orgânica particulada, são também capazes de tolerar condições desfavoráveis, como a falta de alimento, temperaturas extremas e baixas concentrações de oxigênio dissolvido (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

No trabalho realizado por Ramirez *et al.* (2014), que estudaram sistema de lodos ativados para tratamento de efluente de indústria têxtil, foram encontrados os seguintes gêneros: *Acanthamoeba*, *Echinamoeba*, *Korotnevella*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Platyamoeba*, *Saccamoeba*, *Stachyamoeba*, *Thecamoeba*, *Vahlkampfia*, *Vannella*, *Vermamoeba*, *Vexillifera* e *Willaertia*.

As tecamebas são semelhantes às amebas, com a diferença de possuírem uma carapaça em volta da membrana celular. Frequentemente são encontradas em sistemas de tratamento que possuem a etapa de nitrificação, baixa carga orgânica e altas concentrações de oxigênio dissolvido. Os gêneros mais encontrados são *Arcella*, *Euglypha*, *Centropyxis*, *Trinema*, *Bullinularia*, *Diffugia* e *Cochlipodium* (ORTIZ *et al.*, 2009).

• Ciliados

Os ciliados são caracterizados pela presença de cílios na superfície de suas células, que são estruturas que atuam na mobilidade. Alguns podem ser inteiramente cobertos por cílios ou apenas parcialmente. Nos lodos ativados, as comunidades de ciliados predominantes são as de vida livre ou fixas (EIKELBOOM, 2000).

Os ciliados de vida livre precisam de mais alimento que os ciliados fixos, pois parte de sua energia é despendida na locomoção. A predominância de ciliados fixos só ocorre após o declínio da população de ciliados de vida livre, pois nessa condição é possível se alimentarem das bactérias que ficam disponíveis no floco (VON SPERLING, 2007b).

A fauna ciliada encontrada por Siqueira-Castro *et al.* (2016) em um sistema de lodos ativados apresentou grande diversidade de composição que pode ser correlacionado com um efluente de alta qualidade e de condições operacionais eficientes. As espécies encontradas de forma mais frequente são *Aspidisca cicada*, *Vorticella spp.*, *Gastronauta aloisi*, *Acineria uncinata*, e *Epistylis plicatili*. A presença da *Aspidisca cicada* sugere a ocorrência de desnitrificação no processo, enquanto a presença de *Gastronauta aloisi* e *Acineria uncinata* indica a remoção de matéria orgânica carbonácea.

e. Metazoários

Apesar dos micro-organismos mais abundantes nos sistemas de tratamento serem as bactérias, outros organismos também podem aparecer, a exemplo dos metazoários. Entretanto, no sistema de lodos ativados, a participação desses organismos ainda é pouco conhecida (KLEIN *et al.*, 2016). A reprodução desses organismos depende das condições do ambiente que estão presentes, podendo ser sexuada, assexuada ou alternada entre esses dois tipos de reprodução (METCALF; EDDY, 2014).

Geralmente os metazoários se alimentam de bactérias e pequenas partículas orgânicas. Os grupos que são mais comumente encontrados nos sistemas de lodos ativados são os helmintos (nematóides e anelídeos) e rotíferos, já os menos encontrados são gastrotricha e tardígrados, os quais são os mais importantes predadores das células microbianas (VILASECA, 2001; SEVIOUR; NIELSEN, 2010).

Os rotíferos, em particular os pertencentes às espécies *Philodina roseolla* e *Rotaria citrinus*, são mais comumente encontrados em amostras de lodos ativados que os helmintos e os tardígrados, e geralmente estão associados a lodos com boas condições de depuração (SANTOS; PAIVA; SILVA, 2015). É importante destacar que a maior abundância dos metazoários pode reduzir a produção de lodo e afetar negativamente a nitrificação (SONG; CHEN 2009; PUIGAGUT *et al.* 2007).

Tanto os tardígrados quanto os anelídeos parecem ocorrer somente em sistemas de lodos ativados nitrificados devido ao fato de serem suscetíveis à toxicidade da amônia (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

• Rotíferos

Os rotíferos são organismos pluricelulares que se alimentam de bactérias e protozoários e apresentam grande variedade de forma e tamanho, possuindo cabeça com coroa ciliar típica e órgãos com estrutura complexa (JENKINS, RICHARD e DAIGGER, 2003).

No processo de lodos ativados, os rotíferos são os metazoários mais frequentes e são eficientes no consumo de bactérias dispersas ou aderidas aos flocos e de pequenas partículas de matéria orgânica e apresentam também reprodução relativamente mais lenta que os protozoários (EIKELBOOM, 2000).

Estudos comprovam que esses organismos apresentam alguns efeitos com relação às partículas suspensas, a exemplo de Ding *et al.* (2017) que mostraram em seu trabalho que o rotífero *Philodina erythrophthalma*, comumente encontrado nos lodos ativados, melhora o

desempenho da floculação de bactérias e promove a formação de flocos.

- **Helmintos (nematoides e anelídeos)**

Helmintos é o termo usado para descrever os seres que pertencem aos filos *Platyhelminthes*, *Nemathelminthes* e os *Annelida* (METCALF; EDDY, 2014). São invertebrados superiores que aparecem com alguma frequência nos sistemas biológicos de tratamento e, apesar de não desempenharem importante papel no processo de tratamento, alguns helmintos são reconhecidos por transmitirem doenças (helmintíases) (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

Os nematoides apresentam corpo alongado e cilíndrico. O papel dos nematoides no processo de tratamento tem sido pouco estudado, no entanto a sua presença é um indicador da melhora na qualidade do efluente tratado no sistema (GONZÁLEZ; SALAS; GUTIÉRREZ, 2016).

A abundância desses organismos nos sistemas de lodos ativados geralmente representa menos de 1% em relação à microfauna total, sendo sua presença limitada pelo curto tempo de permanência da biomassa no sistema, uma vez que seu desenvolvimento é mais demorado (SALVADÓ, 1994).

Já os anelídeos são vermes alongados, multicelulares e aeróbios. São os maiores organismos que podem ser vistos durante uma investigação microscópica dos lodos ativados e sua aparição é mais frequente na fase de nitrificação (EIKELBOOM, 2000). Possuem corpo alongado de formato cilíndrico com segmentação (anéis) em toda a sua extensão. Alimentam-se de algas, detritos e outros micro-organismos e o gênero mais comum em sistema de tratamento é o *Aelosoma* (KOROTKOVA *et al*, 2019). Já Liang *et al.* (2006) apresentam as famílias Aeolosomatidae e Naididae como as mais comuns em sistemas convencionais de lodos ativados.

Vários estudos têm investigado a possibilidade de aplicar os anelídeos para reduzir a produção de lodo; no entanto, os efeitos potenciais desses organismos devem ser estudados com bastante cuidado uma vez que, por serem patógenos, irão contribuir para a contaminação do produto gerado (ELISSEN *et al.*, 2008).

- **Gastrotricha**

Os organismos filo Gastrotricha se alimentam principalmente de protozoários, bactérias e de pequenas partículas orgânicas. Compartilham várias características morfológicas e fisiológicas com outros grupos de microinvertebrados entre as quais se destacam o corpo flexível parecido

ao de um verme, dimensões microscópicas (50 µm a 1 mm de comprimento), locomoção ciliar e ciclo de vida curto entre outras. Entretanto seu potencial adaptativo é relativamente limitado comparado a outros filos (rotíferos, nematóides), de modo que sua presença raramente ocorre em habitats extremos (BALSAMO *et al.*, 2015; GARRAFFONI *et al.*, 2016)

A presença desse micro-organismo é pouco frequente nos sistemas de tratamento; no entanto, quando encontrados, indicam idades de lodo maiores que cinco dias (VALLVÉ, 2015). Geralmente aparecem em sistemas de lodos ativados nitrificantes, possivelmente por serem suscetíveis à toxicidade da amônia (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003)

A dificuldade de encontrar esse micro-organismo nas etapas tratamento de esgoto foi evidenciado nos estudos realizado por Souza Cruz (2014) e por Ju *et al.* (2013).

Souza Cruz (2014) buscou analisar a microfauna de importância sanitária presente no esgoto afluente e em três diferentes efluentes da unidade CESA/UFRJ (reator UASB, lodo ativado e filtro de areia); entretanto *Gastrotricha* foi encontrado apenas na amostra do esgoto bruto.

Estudo realizado por Ju *et al.* (2013), que buscou caracterizar as variações sazonais (verão e inverno) da composição microbiana no sistema de lodos ativados da estação de tratamento localizada em Sha Tin (Hong Kong), observou que a dinâmica sazonal dos gastrotricos são semelhantes e a abundância desses micro-organismos encontrados no meio foi relativamente pequena.

• Tardígrados

Os tardígrados são pequenos invertebrados com corpos alongados e cilíndricos, divididos em quatro seguimentos corporais que conseguem sobreviver em condições extremas e retornar quase imediatamente para a vida ativa quando as condições se tornem novamente adequadas (NELSON *et al.*, 2015).

Devido a sua ampla tolerância ecológica podem ser encontrados nos sistemas de tratamento de esgoto, na etapa de lodo ativado, uma vez que a composição desse meio se assemelha aos ecossistemas aquáticos onde são naturalmente encontrados (PAJDAK-STÓS *et al.*, 2017).

O papel dos tardígrados no processo de lodo ativado não é muito claro, entretanto pode-se afirmar que a presença desses micro-organismos está relacionada com a nitrificação no sistema, uma vez que esses organismos também são sensíveis à toxicidade da amônia e que a abundância desses organismos está ligado a baixa relação alimento/micro-organismo e ao alto

tempo de detenção de sólidos (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003; GERARDI, 2006).

f. Micro-organismos filamentosos

Eikelboom (2000) define micro-organismos filamentosos como sendo as bactérias, fungos ou algas cujas células não se destacaram uma da outra no momento de sua divisão celular. No entanto, o crescimento na forma de filamentos é característico de certas espécies de bactérias.

Este tipo de micro-organismo está sempre presente no sistema de tratamento dos lodos ativados e contribui para o processo de tratamento, podendo estar presente de forma livre ou aderida aos flocos (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

Existem aproximadamente trinta tipos de organismos filamentosos que contribuem para os problemas de sedimentabilidade do lodo devido ao seu rápido crescimento. As bactérias filamentosas mais comuns são *Haliscomenobacter hydrossis*, *Microthrix parvicella*, *Nocardioformas*, *Sphaerotilus natans*, *Thiothrix*, tipo 0041, tipo 0092, tipo 0675, tipo 1701 e tipo 021N (GERARDI, 2006).

As bactérias formadoras de floco são responsáveis por iniciar a formação dos flocos no sistema de lodos ativados através da matriz gelatinosa que facilita a aglutinação, produzindo assim flocos com maiores dimensões (VON SPERLING, 2007b). Apenas um pequeno número de bactérias é formador de flocos e incluem *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Citromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* e *Zoogloea* (GERARDI, 2006).

Os organismos filamentosos não são prejudiciais quando crescem em equilíbrio com as bactérias formadoras de floco pois, estando no interior do floco, os filamentos dão estrutura e rigidez ao mesmo. No entanto, quando o equilíbrio é perturbado, há uma tendência dos micro-organismos filamentosos se proliferarem, causando vários problemas ligados à separação sólido-líquido, como o intumescimento do lodo (*bulking*) e a formação de espuma (FERREIRA *et al.*, 2014) (Quadro 11).

O intumescimento do lodo é o tipo de deterioração mais frequente e sua causa está associada com as condições ambientais em que as bactérias (formadoras de flocos e filamentosas) encontram-se. O Quadro 11 apresenta algumas das condições que estão associadas com o crescimento excessivo dos organismos filamentosos em lodos ativados.

Devido à capacidade bioindicadora dos micro-organismos presentes nos sistemas de tratamento biológico, é possível identificar, além das características operacionais, o nível de eficiência do sistema de tratamento.

Assim a avaliação de comunidades microbianas é uma maneira útil de diagnosticar

rapidamente a qualidade do efluente que está sendo produzido e assim identificar o mau funcionamento dos sistemas de lodos ativados, uma vez que devido à complexa natureza das comunidades presentes. Qualquer desequilíbrio entre os diferentes tipos de micro-organismo pode alterar o funcionamento desse sistema de tratamento, provocando tanto consequências econômicas quanto ambientais (RODRÍGUEZ *et al.*, 2008; MESQUITA; AMARAL; FERREIRA, 2013).

Quadro 11 - Condições ambientais do sistema de tratamento de esgoto associadas com o crescimento dos organismos filamentosos.

Causa/ Condição	Organismo filamentoso
Baixa concentração de oxigênio dissolvido	<i>Sphaerotilus natans</i>
	Tipo 1701
	<i>H. hydrossis</i>
Baixa relação Alimento/Micro-organismo	Tipo 0041
	Tipo 0675
	Tipo 1851
	Tipo 0803
Presença de sulfetos	<i>Thiothrix</i> I e II
	Tipo 021N
	Tipo 0914
	<i>Beggiatoa</i> spp.
Baixo pH	Fungos
Deficiência de nutrientes	Tipo 021N
	<i>Thiothrix</i> I and II
	<i>N. limicola</i> III
	<i>H. hydrossis</i>
	<i>S. natans</i>

Fonte: Jenkins, Richard e Daigger (2003)

Para o presente estudo, foi abordada a microbiologia de sistema de lodos ativados, considerando que seja a mesma para valo de oxidação, já que esta unidade de tratamento apresenta os mesmos princípios dos sistemas de lodos ativados com aeração prolongada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

O *campus* de São Cristóvão da Universidade Federal de Sergipe está localizado na Av. Marechal Rondon, s/n, Bairro Jardim Rosa Elze, município de São Cristóvão, em Sergipe (Figura 5). Conforme a delimitação topográfica, o *campus* possui área total de 892.075 m², coordenadas geográficas de 10°55'18,49" de latitude sul e 52°54'01,52 de longitude leste e altitude de 7 metros, tomando como referencial a entrada da universidade (SILVA, 2012).

Figura 5 - Delimitação da UFS – *Campus* São Cristóvão.



Fonte: Adaptado de Google (2020)

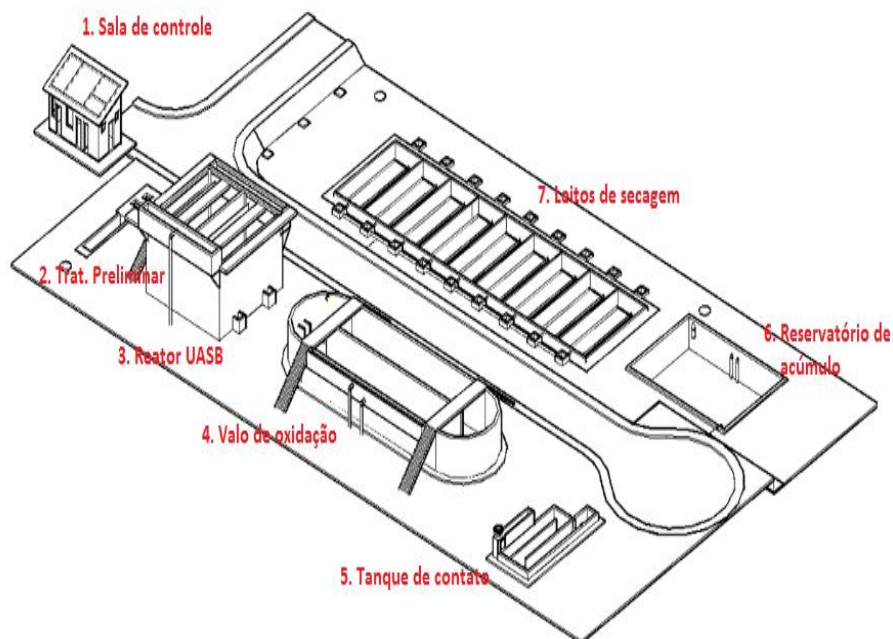
O esgoto gerado no *campus* de São Cristóvão é conduzido por rede coletora para a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da universidade. Inicialmente o sistema de tratamento era composto por duas lagoas de estabilização e foi substituído por um sistema de tratamento combinado (processo anaeróbio seguido por processo aeróbio), projetado para receber vazão média de 76,172 m³/h (21,159 L/s).

O sistema de tratamento atual (Figura 6) é composto por tratamento preliminar

(gradeamento, caixa de areia e medidor de vazão), tratamento secundário (reator anaeróbio de manta de lodo – UASB, seguido por valo de oxidação), tratamento terciário (desinfecção em tanque de contato por cloração), leitos de secagem, reservatório de acúmulo para o efluente e queimador de biogás (SILVA, 2012) (Figura 7).

Após passar pelo tratamento preliminar, o esgoto segue para a estação elevatória que recalca o esgoto bruto para o tratamento anaeróbio, composto por 2 reatores UASB, com volume útil total de 510 m^3 , que se encontram em cota superior à entrada do afluente. Em seguida, o efluente segue para o valo de oxidação que tem o formato orbital com parede divisória e possui dois aeradores mecanizados com potência de 10HP cada, cujo volume do tanque de aeração é de $630,084 \text{ m}^3$. O efluente sobrenadante do valo é destinado a um tanque de contato com chicanas para a mistura do esgoto com o cloro, onde é feita a desinfecção e, após essa etapa, o efluente é encaminhado para o reservatório de acúmulo, com volume útil de 210 m^3 , que tem como destino final um pequeno riacho, afluente do rio Poxim, que passa nas proximidades do *campus*.

Figura 6 - Vista panorâmica da ETE da UFS.



Fonte: Adaptado de Silva (2012)

Figura 7 - Etapas do sistema tratamento de efluentes na ETE da UFS.



Legenda: a) Gradeamento; b) Caixa de areia e calha Parshall; c) Reator UASB; d) Valo de oxidação; e) Leitos de secagem

Fonte: Autora (2020)

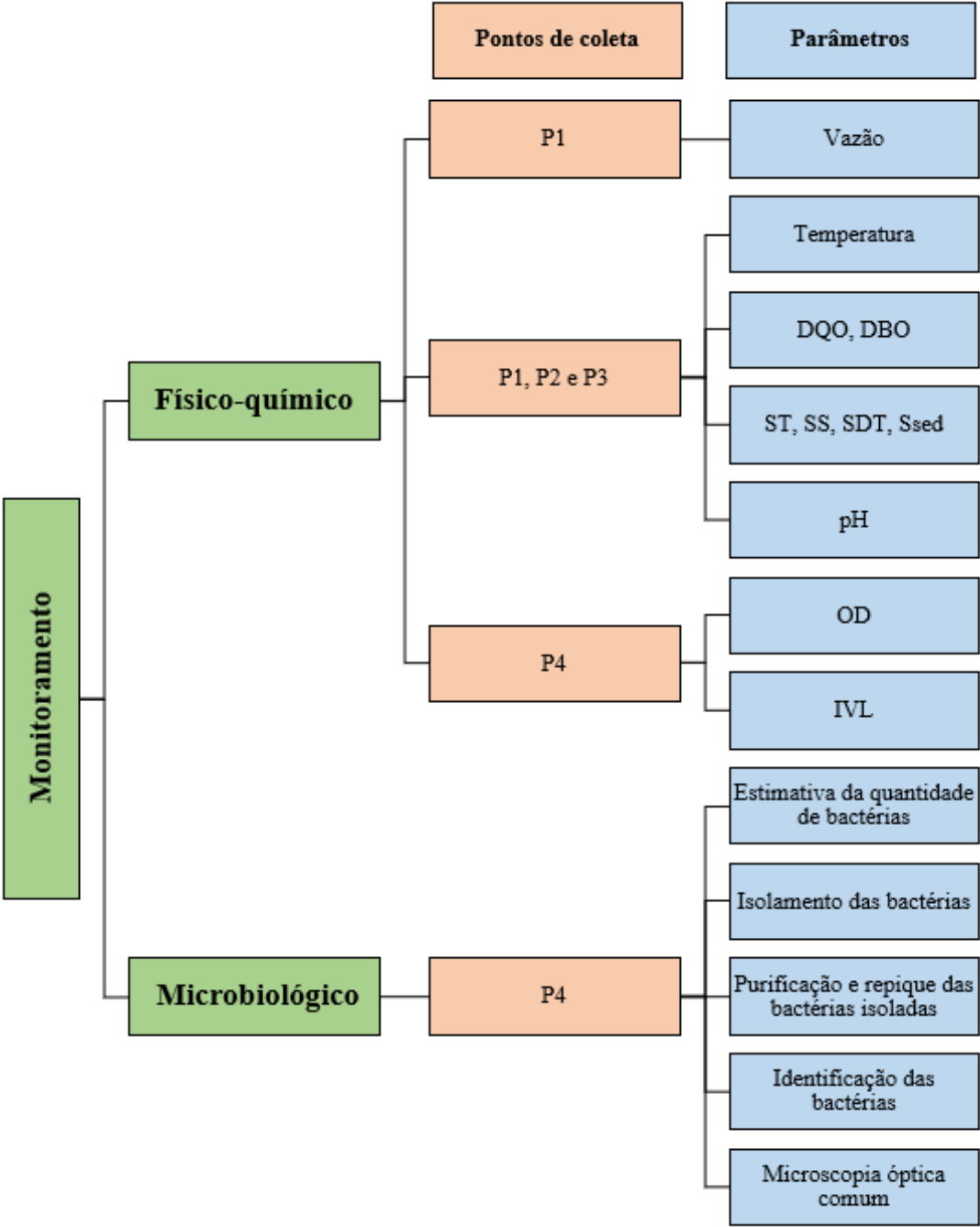
4.2 Coletas amostrais

As amostras foram coletadas semanalmente, no turno da manhã, em dois períodos, um compreendido entre maio e junho/2019, no qual foram realizadas as cinco primeiras coletas, e o outro período entre agosto e novembro/2019, onde foram realizadas oito coletas. Para a determinação dos parâmetros físico-químicos, foram escolhidos quatro pontos (P1, P2, P3 e P4) e, para os parâmetros microbiológicos, foi escolhido um ponto (P4), de forma a representar estrategicamente a investigação desses parâmetros (Figura 8).

O primeiro ponto de coleta (P1), referente ao esgoto afluente bruto, foi logo após a medição de vazão na calha Parshall e também foi realizada a medição de vazão afluente da ETE, o segundo (P2) na saída deste reator (efluente do UASB), o terceiro (P3) na saída do valo de oxidação (efluente do valo) e o quarto (P4) dentro do valo de oxidação (licor misto). Para os

pontos P1, P2 e P3, foram coletados 2L de amostra, já para o ponto P4 foram coletados cerca de 600 mL.

Figura 8 - Fluxograma dos pontos de amostragem para cada parâmetro monitorado.



Fonte: Autora (2020)

Todo o processo de coleta foi realizado com base no Guia nacional de coleta e preservação de amostras, visando garantir que os frascos de coleta não interferissem na

amostragem e, para que os dados obtidos representassem as condições reais do licor misto, foram empregadas garrafas de vidro na cor âmbar para proteger as amostras da luz solar (CETESB, 2011). Para cada campanha amostral, as garrafas de vidro eram reutilizadas, sendo necessário passar por um protocolo de limpeza que consistia em lavar e posteriormente autoclavar as garrafas antes de cada coleta.

O ponto P4, que corresponde ao licor misto do valo de oxidação, foi usado para as análises microbiológicas. Os frascos de coleta da amostra P4 foram preenchidos até a metade do seu volume, com a finalidade de assegurar a vitalidade da comunidade microbiana presente no meio durante o transporte das mesmas. Para os ensaios microbiológicos, o intervalo entre a coleta da amostra e as análises teve prazo máximo de 2 horas para que não houvesse alteração do resultado (VAZOLLÉR *et al.*, 1989). Nas amostras do P4, foram também feitas determinações de OD nas duas campanhas de coleta e IVL, na segunda campanha.

As análises físico-químicas também foram realizadas o mais breve possível, porém, quando não houve esta possibilidade, os mesmos foram acondicionados em refrigeração por um prazo máximo de 6 horas.

No total, foram analisadas 39 amostras coletadas durante o período de estudo para a caracterização físico-química, sendo 13 amostras do efluente bruto, 13 amostras do efluente tratado no UASB e 13 amostras do efluente tratado no valo de oxidação. Para análise microbiológica, foram coletadas 13 amostras para quantificação das bactérias e para análise microscópica.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento e Meio Ambientes (SAMA), do Departamento de Engenharia Civil, e as análises microbiológicas foram analisadas no Laboratório de Entomologia e Parasitologia Tropical (LEPaT) e no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMO) do Departamento de Morfologia. Todos estes laboratórios localizados na Universidade Federal de Sergipe. A identificação das bactérias foi realizada na sede da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizada em Aracaju, Sergipe, no Laboratório de Aquicultura (LAQUA).

A vazão afluente da ETE foi medida no P1.

4.3 Monitoramento físico-químico

As análises físico-químicas foram realizadas seguindo orientações do *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). No Quadro 12 estão listados os

parâmetros analisados, para o ponto de amostragem específico, bem como o método aplicado para a realização das análises.

Uma avaliação simplificada da sedimentabilidade do lodo foi realizada pelo Índice Volumétrico de Lodo (IVL).

Os parâmetros físico-químicos monitorados foram DQO bruta (para o ponto P1), DQO filtrada (para os pontos P2 e P3), e, para P1, P2 e P3, DBO, Sólidos Totais (ST), Sólidos Suspensos (SS), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Sólidos sedimentáveis (Ssed), pH, temperatura e OD. Para avaliar o grau de biodegradabilidade do esgoto e comparar com o valor limite de DBO que é exigido pela Resolução 430 (BRASIL, 2011), foram realizadas duas análises de concentração de DBO no efluente do valo de oxidação.

Quadro 12 - Parâmetros analisados, pontos de coleta das amostras e métodos usados.

Análises	Pontos de amostragem	Método (APHA, 2012)
DQO	P1, P2 e P3	5220 D (Refluxo fechado)
DBO	P3	5210 B
ST	P1, P2 e P3	2540 B (estufa a 103°C – 105°C)
SS	P1, P2 e P3	2540 D (estufa a 103°C – 105°C)
SDT	P1, P2 e P3	2540 E (mufla a 550°C)
Ssed	P1, P2 e P3	2540 F
pH	P1, P2 e P3	4500 –H+-B (potenciométrico)
OD	P4	4500 – O –G
IVL	P4	2710 D

Fonte: Autora (2020)

Outro parâmetro avaliado foi a relação Alimento/Micro-organismo (A/M) existente no valo de oxidação, uma vez que está relacionada à eficiência do sistema, pois uma relação adequada permite remoção mais eficiente do substrato disponível.

O cálculo é realizado em função da concentração de DBO afluente e SSV; no entanto, como o monitoramento realizado foi em função de DQO, optou-se por utilizar esse parâmetro. Para calcular a relação (A/M), foi usada a Equação 1 (VON SPERLING, 2007c):

$$\frac{A}{M} = \frac{Q \cdot S_0}{V \cdot X_{av}} \quad (1)$$

em que:

Q: Vazão do afluente (m³/d);

S_0 : Concentração de DQO afluente ao valo de oxidação (mg/L);

V : Volume do reator (m^3);

X_{av} : Concentração de SSV no reator (mg/L).

As análises de pH, DQO, OD e sólidos foram realizadas desde a primeira campanha de coletas. No entanto, as determinações de IVL e da relação A/M foram realizadas na segunda campanha que começou a partir da 7ª coleta.

4.4 Monitoramento microbiológico

4.4.1 Quantificação de bactérias heterótrofas

As amostras do licor misto do tanque de aeração do valo de oxidação foram coletadas em frascos estéreis de 200 mL e sedimentadas por 10 minutos. Após esse período, foram coletados 10mL do subnadante que foi colocado em um agitador para a quebra dos flocos.

Meio de cultura fundido (ágar nutriente, Merck) foi distribuído em placa de Petri esterilizada até obter uma camada de 3 a 4 mm (para placa de 90 mm de diâmetro, são requeridos entre 15 mL a 20 mL de ágar). Após o resfriamento e solidificação do ágar, adicionou-se a amostra diluída (1:100) até completa absorção no ágar e o material foi incubado a 35°C, que era a temperatura ao qual as amostras eram mantidas no LMO (GRADIM e ANJOS, 2015). No entanto a temperatura recomendada para este procedimento é de 30°C.

Após a incubação, o número de colônias encontrado foi multiplicado pelo inverso da diluição utilizada. A média dos valores obtidos foi calculada nas diferentes diluições e os resultados expressos em UFC/mL.

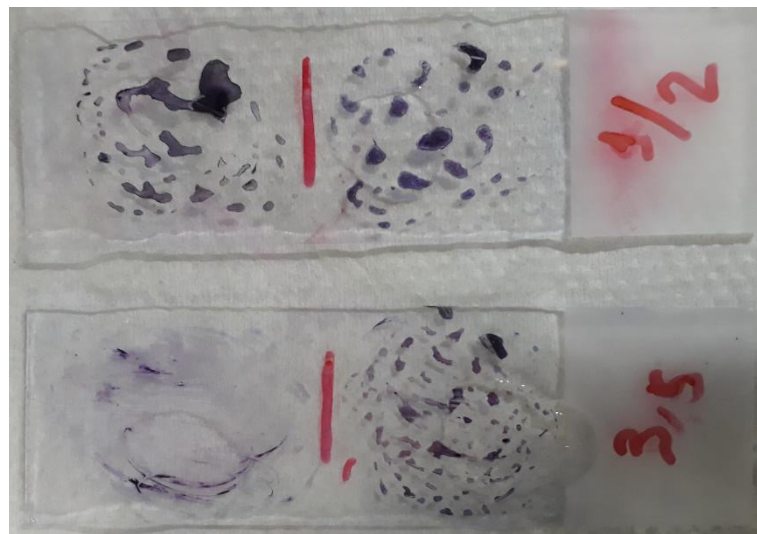
4.4.2 Caracterização das bactérias

Após o crescimento das colônias em meio de cultivo, foram selecionadas as que apresentaram características fenotípicas distintas com relação ao tamanho, forma (circular ou irregular), superfície (plana ou rugosa), borda, textura e pigmentação. Com o auxílio de uma alça de platina, as colônias selecionadas foram repicadas no mesmo meio de cultivo anteriormente citado e incubadas visando sua purificação e crescimento (MENDONÇA, 2002; GRADIM; ANJOS, 2015).

4.4.2.1 Método de coloração de Gram

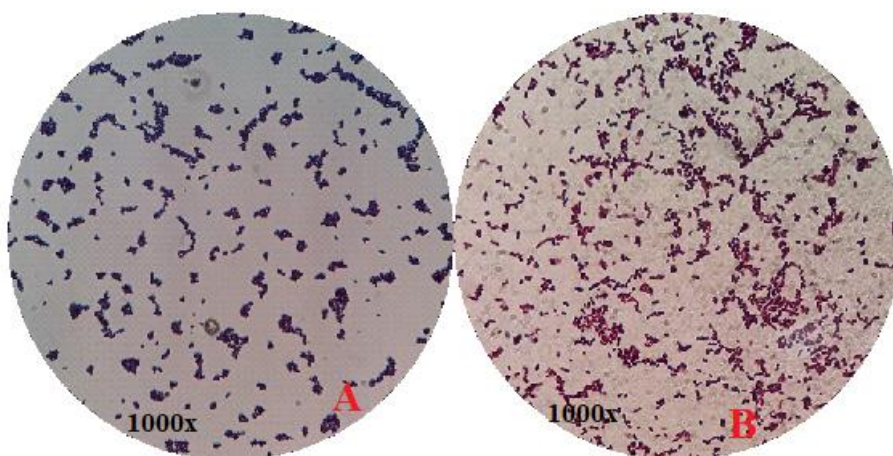
Para a coloração de Gram, as bactérias foram preparadas seguindo o protocolo apresentado por Luiz (2014) e visualizadas em microscópio óptico (Figura 9). Aquelas bactérias que adquiriram coloração azul-violeta foram caracterizadas como Gram-positivas e as de coloração vermelha, como Gram-negativas. Nessa etapa também foi analisada a morfologia das bactérias (Figura 10).

Figura 9 - Achados celulares de esfregaços submetidos ao teste de coloração de Gram.



Fonte: Autora (2020)

Figura 10 - Coloração de Gram



A) Gram-positivas, com formato de cocos, B) Gram-negativas, com formato de bacilos.

Fonte: Autora (2020)

4.4.2.2 Análise das bactérias isoladas através da espectrometria de massa com ionização por laser (MALDI-TOF)

Após o período de crescimento (24 horas) em ágar *Plate Count Agar* (PCA), as colônias isoladas foram repicadas em microtubos contendo meio *Trypticase Soy Agar* (TSA), um meio de cultura não seletivo, e armazenadas em temperatura ambiente até sua identificação por MALDI-TOF (Figura 11). Para realizar o teste, as bactérias foram reativadas no meio de cultura *Agar Mueller Hinton*, devido à capacidade que este meio tem de proporcionar um rápido desenvolvimento das bactérias analisadas.

Figura 11 - Equipamento do MALDI – TOF.



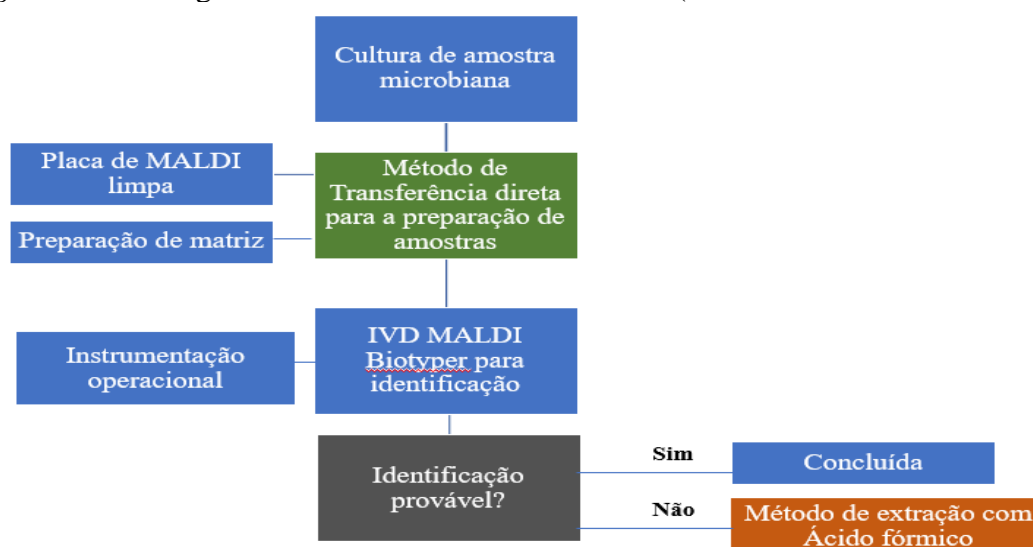
Fonte: Autora (2020)

Foi utilizado o método de transferência direta (Figura 12), conforme a metodologia descrita por Santos, Hildenbrand e Schug (2016):

- O material a ser inserido na placa de aço inox do MALDI foi retirado da própria placa de meio de cultura em que o micro-organismo cresceu sem nenhum pré-tratamento;
- Cada colônia (material biológico) foi espalhada diretamente em um spot da placa de MALDI de forma a gerar em uma fina camada. Para este fim, foram utilizadas alças de inoculação;
- Também foi inserido na placa o padrão de calibração de equipamento que corresponde ao *Bacterial Test Standard* (BTS), sendo utilizada para este fim uma cepa de *Escherichia coli*;
- Foi verificado se a posição na placa de cada amostra correspondia ao esquema de

- rastreio usado e também se havia um aspecto homogêneo na amostra que foi espalhada em cada spot da placa;
- Cada amostra foi sobreposta com 1 μL da solução matriz de MALDI HCCA (ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico) que co-cristaliza com a amostra e lisa as células;
 - Em seguida, a amostra coberta pela matriz foi seca em temperatura ambiente;
 - Após esse período, a placa com a amostra foi inserida no interior do equipamento e bombardeada por laser, convertendo as moléculas das células em íons em fase gasosa que eram separados e identificados de acordo com a razão massa/carga por meio da comparação com banco de dados do *software* MALDI Biotyper, contendo espectros de massa de referência.

Figura 12 - Fluxograma de trabalho do MALDI - TOF (método de transferência direta).



Fonte: Autora (2020)

Como resultado foram obtidos os espectros de massa das amostras, os quais foram submetidos à análise de similaridades pelo programa MALDI Biotyper versão 4.1 (Bruker Daltonics, USA). Para identificação das bactérias, cada padrão de picos gerado foi comparado com espectros de referência, conhecidos por *Main Spectra Projections* (MSP) que estão contidos na biblioteca *In Vitro Diagnostic System*, Bruker Daltonics (IVD) integrada ao algoritmo Biotyper.

As análises pelo Biotyper foram classificadas utilizando valores de escore propostos pelo fabricante, que variavam, em escala logarítmica, entre 0 e 3. Os resultados foram considerados como consistente quanto ao gênero e à espécie do micro-organismo quando o valor do escore foi maior que 2. Quando o escore ficou entre 1,700 e 1,999, apenas o gênero foi

identificado. Por sua vez, quando o resultado foi menor que 1,7, a identificação foi mal sucedida, o que resultou da falta de correspondência entre o espectro padrão e o da amostra, fornecendo uma identificação não confiável (Quadro 13).

Quadro 13 - Classificação dos valores de escore

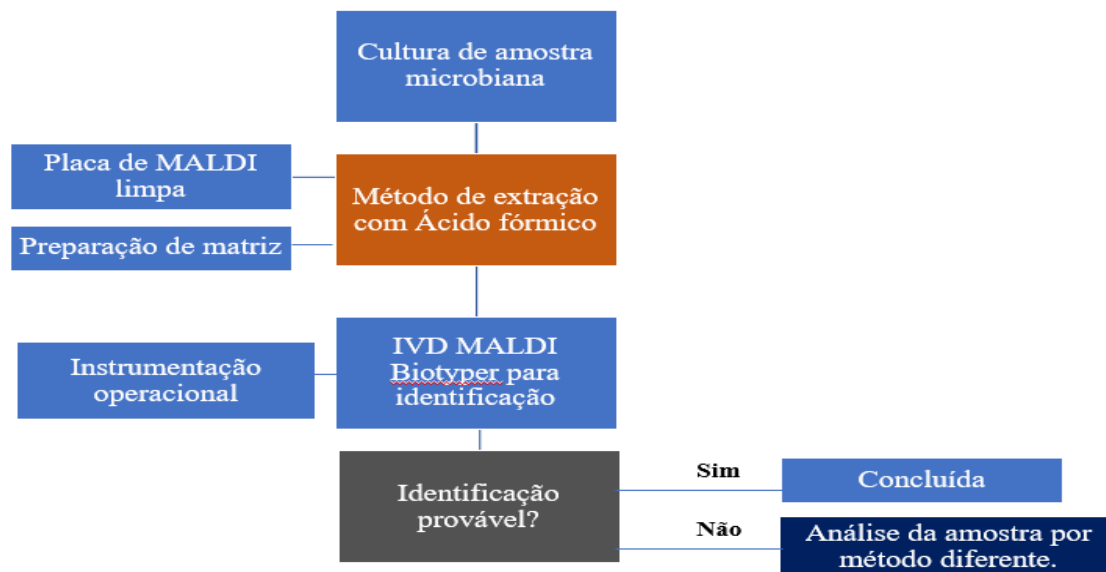
Faixa	Interpretação
2,000 - 3,000	Identificação confiável
1,700 - 1,999	Identificação confiável de gênero e provável identificação de espécie
0,000 - 1,699	Não há identificação confiável

Fonte: Autora (2020)

As amostras não identificadas pelo método de transferência direta foram preparadas pelo método de extração com etanol/ácido fórmico (Figura 13), conforme metodologia descrita por Sauer *et al.* (2008):

- a) As mesmas colônias empregadas no método de transferência direta foram colocadas em tubos de Eppendorf contendo 300 µL de água Milli-Q;
- b) Foi gerada uma suspensão homogênea das células transferidas para os tubos ao qual foram adicionados 900 µL de etanol puro e posteriormente agitada em um agitador tipo vórtex por 1 minuto;
- c) As células foram centrifugadas por 2 minutos a 12.000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi seco ao ar em temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida foram adicionados 50 µL de ácido fórmico 70% e misturado bem e, após homogeneização, foram adicionados 50µL de acetonitrila pura;
- d) Depois de nova centrifugação a 12.000 rpm, agora por 2 minutos, foi aplicado 1µL do sobrenadante do extrato da amostra em um spot da placa de MALDI, deixando-se secar ao ar ambiente. Após esse período, cada amostra foi coberta com 1µL da matriz para MALDI (HCCA) e secou em temperatura ambiente. Na sequência a amostra ficou pronta para passar pelo processo de classificação.

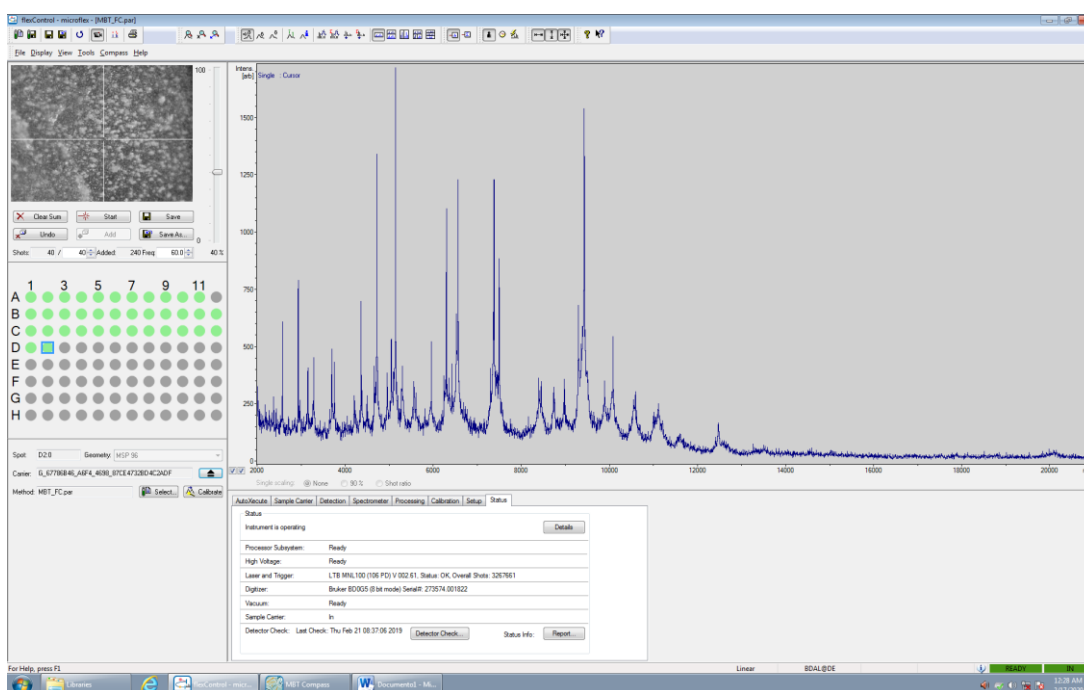
Figura 13 - Fluxograma de trabalho do MALDI -TOF pelo método de extração.



Fonte: Autora (2020)

Os espectros brutos obtidos (Figura 14), após o ensaio usando o método de extração, também foram processados usando o *software* MALDI Biotyper para identificação dos isolados.

Figura 14 - Correspondência de padrão de picos do espectro fornecido pelo Biotyper



Fonte: Autora (2020)

4.5 Microscopia óptica comum

Para observação dos protozoários, metazoários e outros micro-organismos presentes no valo de oxidação, a exemplo de fungos e algas, foi realizada a microscopia óptica de luz comum. Este método consiste na observação ao microscópio de células de pequenos organismos vivos em seu meio natural.

Devido ao fato de haver poucos sedimentos na amostra, eram coletados 500 mL no ponto P4 que permanecia em repouso em temperatura ambiente. Ao final do dia, era desprezado o sobrenadante da amostra, o resto era filtrado, passando por uma gaze cirúrgica dobrada em 4 partes e ficava em repouso em um cálice de sedimentação por 24 horas. Após esse período, com o auxílio de conta-gotas, eram colocadas de 1 a 3 gotas do material que sedimentou no cálice e duas gotas de lugol na superfície de uma lâmina, que em seguida era levada ao microscópio para ser visualizada com o aumento de 400x.

4.6 Análise estatística

Para avaliar a influência das características físico-químicas do efluente no crescimento dos micro-organismos, faz-se necessária a aplicação de análise estatística. Os parâmetros selecionados em cada coleta foram: temperatura, sólidos, OD e DQO bruta e filtrada. Como a DBO foi monitorada em apenas duas coletas, não foi considerada nesta análise. Inicialmente a normalidade dos dados foi verificada com o teste gráfico *Normal Probability Plot*. Conforme Normando, Tjäderhane e Quintão (2010), quando a curva de distribuição dos dados não apresenta a forma de sino, a distribuição dos dados é denominada assimétrica e dessa forma os testes usados para dados com distribuição assimétrica devem ser não paramétricos.

Para o presente estudo, optou-se por aplicar o teste não paramétrico de *Mann-Whitney*, considerando o nível de significância de 5%, por se tratar de um teste que compara medianas de grupos independentes. O teste não paramétrico de Correlação de *Spearman*, no nível de significância de 5%, também foi aplicado de forma a avaliar o grau de relacionamento entre as variáveis analisadas. Tanto os testes estatísticos quanto a obtenção dos parâmetros (média, mediana, desvio padrão e percentis) referentes à estatística descritiva foram executados no Microsoft Excel.

Uma vez que foram observadas diferenças significativas entre a quantidade de bactérias heterotróficas e os parâmetros analisados, também foi aplicado o teste não paramétrico de

Correlação de *Spearman*, no nível de significância de 5%, de forma a avaliar o grau de relacionamento entre as variáveis analisadas.

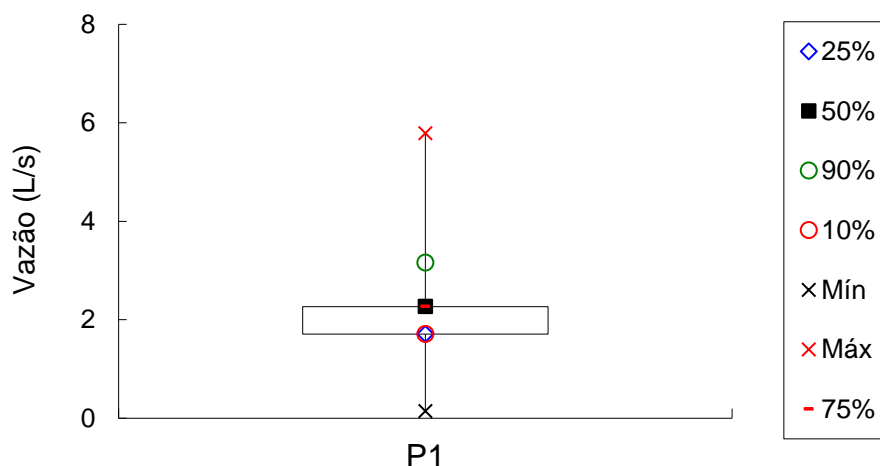
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Monitoramento físico-químico

O desempenho do sistema de tratamento da ETE da UFS foi avaliado por meio dos parâmetros físico-químicos determinados nas 13 amostras coletadas nos pontos P1, P2, P3 e P4.

A variação da vazão do esgoto, durante o período deste estudo, pode ser observada no gráfico da Figura 15 e sua estatística descritiva, na Tabela 4.

Figura 15 - Vazão afluyente na ETE da UFS



Fonte: Autora (2020)

Tabela 4 - Estatística descritiva da vazão afluyente.

Vazões de entrada (L/s)					
Ponto de Coleta	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	2,33	2,27	0,14	5,79	1,27

Fonte: Autora (2020)

A vazão média na entrada não sofreu grandes variações, com valor médio de $2,33 \pm 1,27$ L/s. Pela Figura 20, percebe-se que 75% dos resultados encontrados estão pouco acima da vazão de 2 L/s. Os valores encontrados estão próximos aos apresentados por Menezes, Oliveira e Mendonça (2018) que realizaram uma análise comparativa entre a vazão de projeto e de

operação da ETE da UFS e obtiveram vazão média de operação de 2,62 L/s, o que representava 19% da vazão média projetada.

Para o ano de 2019, a vazão média estimada no projeto da ETE era de 14,116 L/s. Desta forma, comparando esse valor com a vazão afluyente média obtida durante o período de coletas, percebe-se que a estação está operando com 16,5% da vazão de projeto para o corrente ano.

Uma das consequências de se estar operando com uma vazão de 83,5% menor do que foi projetado é a limitação da concentração de substrato disponível, o que influencia no crescimento dos micro-organismos envolvidos no tratamento, sendo assim difícil garantir a eficiência dos processos biológicos.

5.1.1 Temperatura e pH

A temperatura afeta diretamente tanto as condições do ambiente em que ocorre o tratamento quanto a diversidade biológica no meio. Uma elevação na temperatura pode aumentar as reações químicas e biológicas, reduzir a solubilidade dos gases e reduzir a concentração de oxigênio dissolvido no meio (METCALF; EDDY, 2014).

Observou-se que a temperatura afluyente média se manteve no intervalo entre 24,5°C e 30,8°C, o que está de acordo com o esperado para regiões tropicais, uma vez que o afluyente sofre influência do clima regional e, no caso de Sergipe, essa temperatura permanece relativamente estável ao longo do ano, acima dos 25°C (Tabela 5, Figura 16).

Os processos anaeróbios dependem fortemente da temperatura operacional que influencia diretamente na taxa de conversão da matéria orgânica. No efluente do reator UASB (P2), a temperatura não apresentou grandes variações, ficando entre 24,4°C e 31,3°C. As temperaturas encontradas ficaram na faixa mesófila que são ideais para as bactérias, já que temperaturas elevadas, acima dos 30°C são favoráveis para a produção de metano durante a digestão anaeróbia (LIAO *et al.*, 2016). A manutenção de temperaturas uniformes dentro do reator é outro requisito importante, já que, no tratamento anaeróbio, a população microbiana é sensível a mudanças bruscas de temperatura, o que pode causar falhas no sistema de tratamento (CHERNICHARO, 2007).

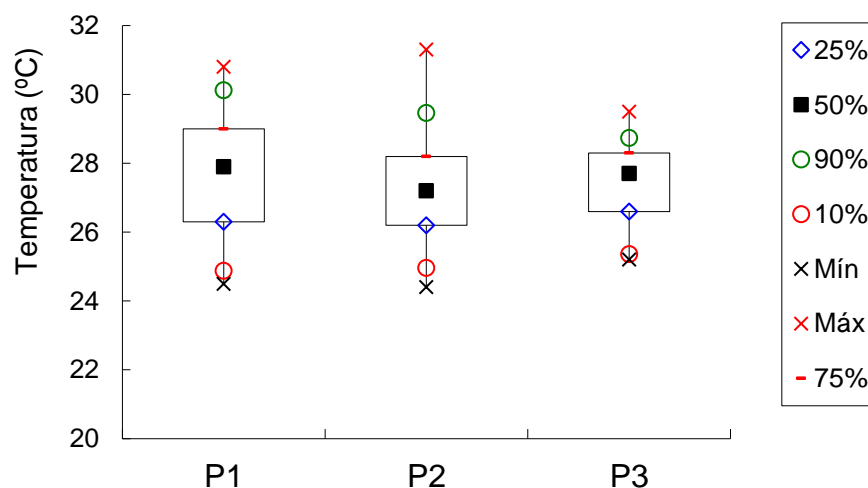
No efluente do valo de oxidação (P3), a temperatura média foi de $27,5 \pm 1,4^\circ\text{C}$, com máxima de 29,5°C e mínima de 25,2°C. Os valores encontrados estão dentro da faixa ótima para as atividades bacterianas que preferem temperaturas entre 25 e 35°C (GU *et al.*, 2018).

Tabela 5 - Estatística descritiva da temperatura.

Ponto de Coleta	Temperatura (°C)				
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	27,7	27,9	24,5	30,8	2,0
P2	27,3	27,2	24,4	31,3	2,0
P3	27,5	27,7	25,2	29,5	1,4

Fonte: Autora (2020)

Figura 16 - Monitoramento da temperatura.



Fonte: Autora (2020)

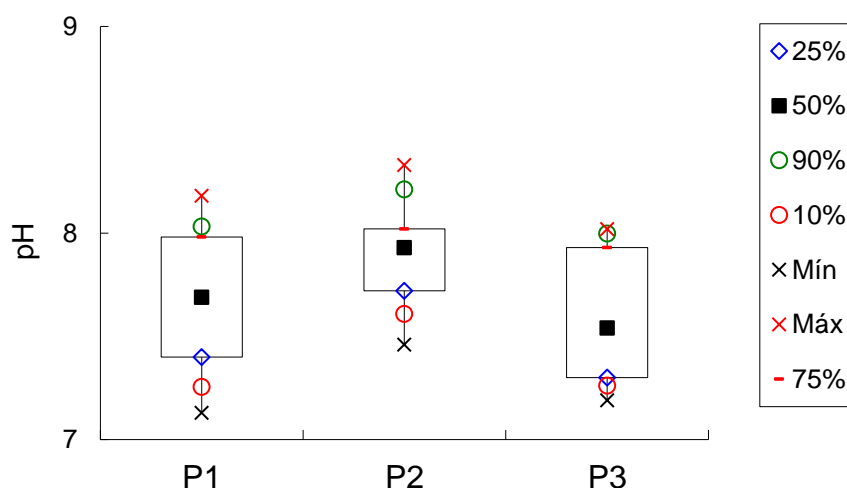
Com relação a Resolução CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011), é exigido que o efluente possua temperatura inferior a 40°C para o seu lançamento. Com base nos resultados, é possível afirmar que, em todas as coletas, a temperatura do efluente esteve abaixo do limite, sendo assim adequada em termos de lançamento deste efluente no corpo receptor.

De modo geral, analisando os resultados apresentados na Tabela 5 e na Figura 16, as quais relatam como a temperatura variou durante todo o período de análise, é possível classificar os processos de tratamento tanto do UASB como do valo de oxidação como mesófilo, uma vez que as temperaturas médias ficaram relativamente próximas a 30°C. Em algumas coletas, os menores valores de temperatura foram próximos de 25°C, o que está relacionado com a temperatura ambiente no momento da coleta que sofreu variação, devido à ocorrência de chuvas no período próximo à coleta das amostras.

O pH também é um parâmetro importante para os micro-organismos ativos no sistema de tratamento, uma vez que suas variações podem alterar o processo de biodegradação, pois afeta a atividade de enzimas e a solubilização dos compostos. A maioria dos micro-organismos apresenta como faixa ótima de crescimento em pH próximo do neutro.

Os valores de pH do esgoto bruto ficaram levemente acima da neutralidade, distribuindo-se na faixa entre 7,13 e 8,18 (Figura 17). No efluente do reator UASB, os valores de pH não apresentaram grandes variações com valores máximo e mínimo de 8,33 e 8,01, respectivamente, e próximos dos valores encontrados para o esgoto bruto.

Figura 17 - Monitoramento do pH.



Fonte: Autora (2020)

Com relação ao efluente do valo de oxidação, os limites encontrados foram de 8,02 e 7,19, sendo que a mediana de 7,54 nos indica que cerca de 50% dos resultados ficaram abaixo do valor máximo.

Os valores de pH encontrados tanto para o efluente do UASB quanto do valo de oxidação estão dentro da faixa de 6,5 e 8,5 recomendada por Von Sperling (2007a) para sistemas de tratamento biológicos.

De acordo com Claas (2007) e Silva Filho (2009), mudanças bruscas de pH podem causar efeitos tóxicos para os micro-organismos que são responsáveis pelo tratamento biológico, diminuindo a velocidade e as reações enzimáticas que ocorrem no sistema. Como pode ser observado na Figura 17, mudanças bruscas de pH não foram observadas durante o

período de análise o que é comprovado pela simetria representada pela mediana no centro dos gráficos e da pequena dispersão representada pelo pequeno intervalo entre o primeiro e o segundo quartil e a pequena amplitude entre os valores máximo e mínimo.

Com relação a legislação, a Resolução CONAMA Nº 430 (BRASIL, 2011) determina que o efluente possua pH entre 5 e 9 para serem lançados nos cursos hídricos. Em todas as análises realizadas, o efluente ficou próximo a faixa de neutralidade, atendendo assim a esse parâmetro estabelecido na legislação. Além disso, a faixa de pH encontrada se mostrou adequada para o desenvolvimento dos micro-organismos responsáveis pelo tratamento biológico que estão presentes no licor misto.

5.1.2 Oxigênio dissolvido (OD)

A concentração de OD em um sistema de lodos ativados deve ser controlada para garantir a sobrevivência dos micro-organismos aeróbios, sendo necessária a manutenção de concentração mínima de 2mg/L por meio de aeradores mecânicos. Entretanto, na prática, pode ocorrer a interrupção da aeração no sistema de tratamento devido a problemas ocasionais na distribuição de energia elétrica ou com o intuito de reduzir o consumo de energia. De acordo com Guo *et al.* (2010), a aeração contribui com aproximadamente 40 a 50% de toda a energia elétrica consumida em uma ETE.

Seguindo as recomendações do projeto, o valo de oxidação da UFS opera com períodos em que os aeradores são desligados de forma planejada para promover a sedimentabilidade do lodo e reduzir consumo de energia elétrica na universidade. Desta forma, os aeradores só funcionam em dias úteis, com 6 horas de funcionamento diário dividido em dois ciclos, sendo um de 9 as 12h e o outro de 13:30 as 16:30 h, de acordo com o manual de operação da estação. Assim, o monitoramento do OD foi realizado em dois momentos, um antes de ligar o aerador às 8 h (ou seja, após o aerador passar 15h sem funcionar) e uma hora após o início da aeração para verificar se, após a interrupção do fornecimento de ar ao sistema, ainda havia OD e se, após 1 hora de aeração, o sistema já atingiria o nível mínimo requerido para o correto funcionamento do sistema que seria de 2,0mg/L (Tabela 6, Figura 18).

Baixas concentrações de oxigênio dissolvido foram encontradas no licor misto antes do funcionamento do aerador, apresentando variação entre 0,4 e 0,8 mg/L. No período considerado, o valor médio foi de 0,6 mg/L, bem abaixo da concentração mínima necessária para o tanque de aeração que deve ser próximo de 2 mg/L. Esse valor influencia nas reações

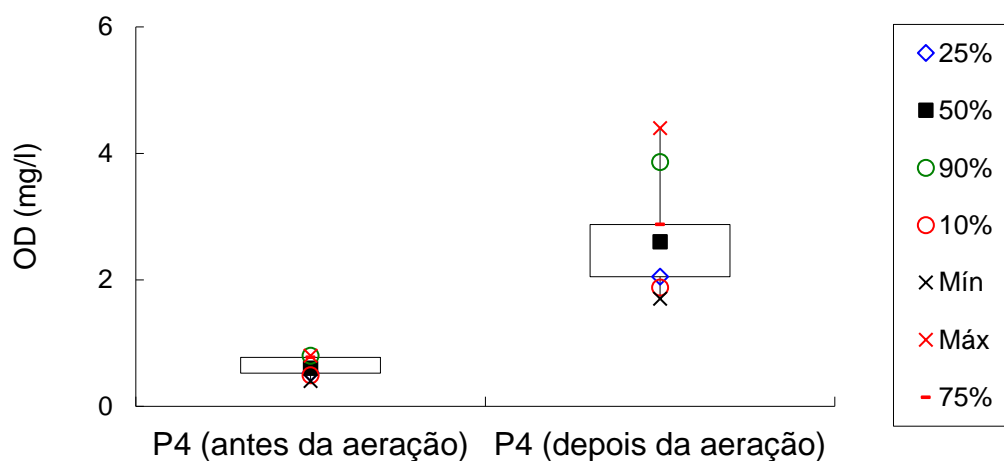
biológicas envolvidos na remoção dos poluentes (matéria orgânica), afetando a qualidade do efluente final.

Tabela 6 - Estatística descritiva do OD.

Ponto de Coleta	OD (mg/L)				
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P4 (antes de ligar o aerador)	0,6	0,6	0,4	0,8	0,1
P4 (depois de ligar o aerador)	2,7	2,6	1,7	4,4	0,9

Fonte: Autora (2020)

Figura 18 - Monitoramento do OD



Fonte: Autora (2020)

Costa, Ferreira e Van Haandel (2007) realizaram o monitoramento da atividade das bactérias heterótrofas em períodos de interrupção da aeração de um sistema de lodos ativados recebendo efluente doméstico por meio da respirometria. Os autores concluíram que grande parte das bactérias no lodo do sistema sobrevive por períodos de até duas semanas sem aeração, começando a haver decaimento expressivo da fração de lodo ativo a partir da terceira semana. Desta forma, a atividade específica das bactérias heterótrofas permanece praticamente constante durante os períodos em que o sistema de aeração da ETE da UFS permanece desligado.

Uma hora após ser ligado o aerador foi encontrado valor médio de oxigênio dissolvido no reator de 2,7 mg/L, sendo um pouco maior que a concentração mínima de 2,0 mg/L exigida para manutenção dos micro-organismos aeróbios.

As maiores concentrações de OD no reator, após ser ligado o aerador, foram encontradas a partir da 6ª coleta, período o qual foi solucionado o problema que impedia o funcionamento dos dois aeradores que compõem o sistema. O valor máximo atingido foi de 4,4 mg/L, encontrado na 9ª coleta.

As menores concentrações de OD foram obtidas nas primeiras 5 coletas, período em que só havia um aerador em funcionamento. O valor mínimo atingido foi de 1,7 mg/L, obtido na 3ª coleta.

5.1.3 DQO

Os valores da DQO bruta para as amostras do esgoto bruto (P1) e da DQO filtrada para os efluentes do reator UASB (P2) e do valo de oxidação (P3) foram monitorados durante o presente trabalho.

Geralmente, o esgoto sanitário bruto apresenta elevada carga orgânica, podendo ser enquadrado como fraco para valores de DQO de 250 mg/L, médio para DQO de 500 mg/L e forte para DQO de 1.000 mg/L (METCALF; EDDY, 2003). No período em análise, para o esgoto bruto, foi obtida DQO bruta média de 210mg/L, o que caracteriza o esgoto do *campus* como esgoto fraco (Tabela 7; Figura 19).

Para o efluente do reator UASB, a DQO filtrada média foi de 168 mg/L, o que equivale à eficiência de 20%. Esse resultado está muito abaixo do apresentado na literatura por Von Sperling (2007a) que indica uma eficiência de remoção de carga orgânica entre 55 e 70% para esse tipo de reator.

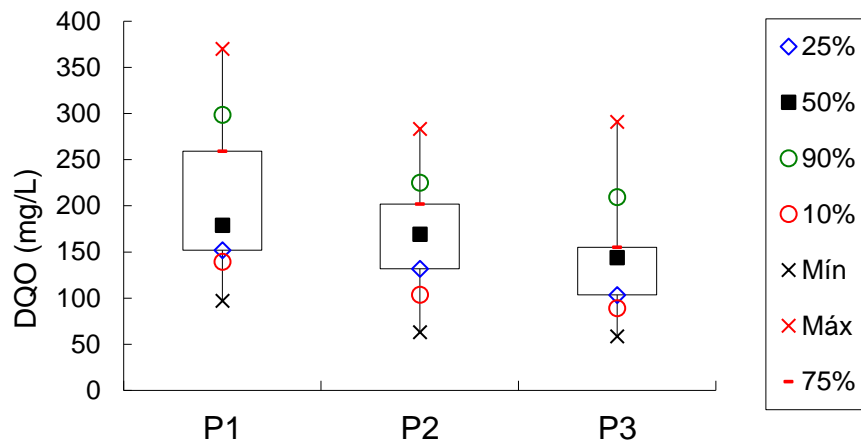
Almeida *et al.* (2013) obtiveram concentração de DQO variando entre 140 e 225 mg/L para o efluente do reator UASB, com faixa de eficiência situada entre 50 e 70%. A DQO média obtida na presente pesquisa está situada dentro da faixa indicada por esses autores, entretanto a eficiência obtida está muito abaixo da que foi apresentada

Tabela 7 - Estatística descritiva da DQO.

Ponto de Coleta	DQO (mg/L)				
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	210	179	97	370	78
P2	168	169	63	283	58
P3	146	144	58	291	61

Fonte: Autora (2020)

Figura 19 - Monitoramento da DQO.



Fonte: Autora (2020)

Para o efluente do valo de oxidação, a DQO filtrada média foi de 146 mg/L, o que representa eficiência de remoção de apenas 13% da matéria orgânica. Essa eficiência está bem abaixo da encontrada na literatura. Segundo Von Sperling (2007c), o sistema de lodos ativados convencional apresenta remoção de DQO na ordem de 85 a 90% e de 90 a 95% quando operada com aeração prolongada.

De acordo com os dados obtidos é possível verificar que, no geral, a eficiência de remoção de DQO da estação está em torno de 30%, bem abaixo do que é esperado para um sistema combinado. De acordo com Von Sperling (2007c), a eficiência de remoção de um sistema combinado composto de um reator UASB seguido de lodos ativados se situa entre 83 a 90%.

5.1.4 Relação DQO/DBO

Com a análise da concentração de DBO no ponto P3, em duas coletas, foi possível calcular a relação DQO/DBO (Tabela 8) e com isso comparar com o valor limite de DBO exigido pela Resolução CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011) para lançamento do efluente no corpo receptor.

Tabela 8 - Valores de DQO, DBO e relação DQO/DBO.

Ponto de coleta	DQO (mg/L)			DBO (mg/L)			DQO/DBO		
	21/mai	28/mai	Média	21/mai	28/mai	Média	21/mai	28/mai	Média
P3	213	291	252	42,86	64,29	54	5,0	4,5	4,8

Fonte: Autora (2020)

O valor médio encontrado para a relação DQO/DBO no efluente do valo foi de 4,8. Esse valor está de acordo com o que é apresentado por Jordão e Pessoa (2014), uma vez que à medida que o afluente passa pelas etapas de tratamento a matéria biodegradável vai sendo degradada, enquanto a fração inerte permanece quase que inalterada, elevando assim os valores da relação DQO/DBO.

A Resolução CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011) estabelece que o efluente não pode causar ou possuir potencial tóxico para os organismos aquáticos e, desta forma, a concentração máxima de DBO para lançamento de efluentes no corpo hídrico não deve ultrapassar 120 mg/L.

Comparando os resultados obtidos com a legislação, é possível verificar que a DBO média do efluente da ETE (54 mg/L) ficou bem abaixo do valor máximo permitido, atendendo assim aos requisitos legais para o lançamento de efluentes sanitários no corpo hídrico.

5.1.5 Sólidos

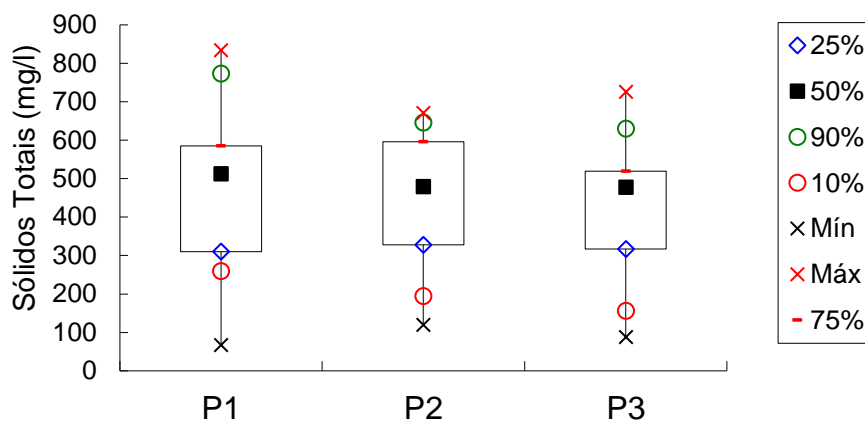
- Sólidos Totais

É possível observar que o valor médio afluente (P1) para o período em estudo foi de 473mg/L (Figura 20, Tabela 10), apresentando concentrações máxima e mínima de 834 e 68mg/L respectivamente. A faixa de concentração obtida é considerada média por Metcalf e Eddy (2003) e próxima do resultado obtido por Alves *et al.* (2007) que estudaram o esgoto bruto da ETE de Passo Fundo, obtendo faixa de variação entre 202 e 904 mg/L.

No efluente do UASB (P2), as concentrações máxima e mínima foram de 671 e 120mg/L, respectivamente, apresentando valor médio de 444mg/L. No efluente do valo de oxidação (P3), as concentrações máxima e mínima foram de 726 e 88 mg/L, respectivamente, com valor médio de 430 mg/L.

Verificou-se, neste estudo, eficiência média de remoção de sólidos totais nas etapas do tratamento biológico do UASB e do valo de oxidação de 6 e 9%, respetivamente. Esses valores encontrados estão muito abaixo da faixa de eficiência típica definida entre 85 e 95% (VON SPERLING, 2007c).

Figura 20 - Monitoramento de Sólidos Totais.



Fonte: Autora (2020)

Tabela 9 - Estatística descritiva do parâmetro Sólidos Totais

Sólidos Totais (mg/L)					
Ponto de Coleta	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	473	513	68	834	218
P2	444	480	120	671	181
P3	430	478	88	726	188

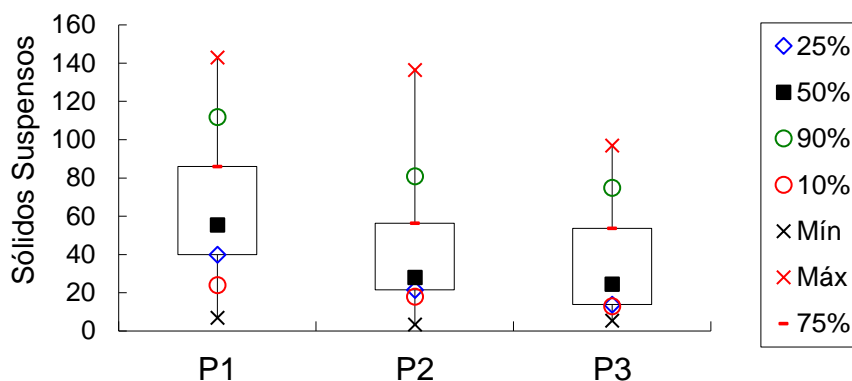
Fonte: Autora (2020)

A relação média entre os sólidos totais voláteis e os sólidos totais do afluente foi de 0,36 e para o efluente do UASB e do valo essa relação foi de 0,28 e 0,34, respectivamente. Isso demonstra que as amostras apresentaram significativo grau de mineralização e que há um predomínio da parcela de sólidos totais fixos. Em outras palavras, a parcela orgânica não predomina no esgoto que alimenta a estação, provavelmente devido ao elevado consumo de água no *campus* e a lançamento de águas pluviais na rede coletora, que dilui o esgoto.

- Sólidos Suspensos

A faixa de variação dos sólidos suspensos no esgoto bruto foi de 7,0 a 143,0 mg/L com média de $63,3 \pm 39,1$ mg/L (Figura 21, Tabela 11). A maioria dos resultados está abaixo da faixa de valores típicos de sólidos em suspensão no esgoto bruto que é de 100 a 450 mg/L, o que indica um esgoto de baixa concentração (LEME, 2010).

Figura 21 - Monitoramento dos Sólidos Suspensos.



Fonte: Autora (2020)

Tabela 10 - Estatística descritiva dos sólidos suspensos.

Sólidos Suspensos (mg/L)					
Ponto de Coleta	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	63,3	55,5	7,0	143,0	39,1
P2	43,7	44,6	3,5	136,5	39,0
P3	36,5	24,5	5,5	97,0	29,1

Fonte: Autora (2020)

No efluente do UASB, a faixa de variação dos sólidos suspensos foi de 3,50 a 136,5 mg/L. No efluente final, a faixa de variação foi de 5,5 a 97,0 mg/L, o que comprova a colaboração do valo de oxidação na melhoria da qualidade do efluente. Os resultados obtidos foram próximos aos encontrados por Khan *et al.* (2014) para diversos tipos de pós-tratamento em sistema combinado.

No entanto, analisando os dados, verifica-se que a eficiência de remoção do reator UASB foi de 31%, já para o valo de oxidação a eficiência foi de 16%, o que é considerado muito abaixo das taxas de remoção esperada para esse sistema que seria de 85 a 95% segundo Von Sperling (2016).

A baixa eficiência de remoção do valo de oxidação pode estar relacionada à inexistência de um decantador secundário e, para funcionar em batelada, o valo não poderia receber o efluente do reator UASB, fato este que não ocorre na ETE da UFS. Em palavras, quando os

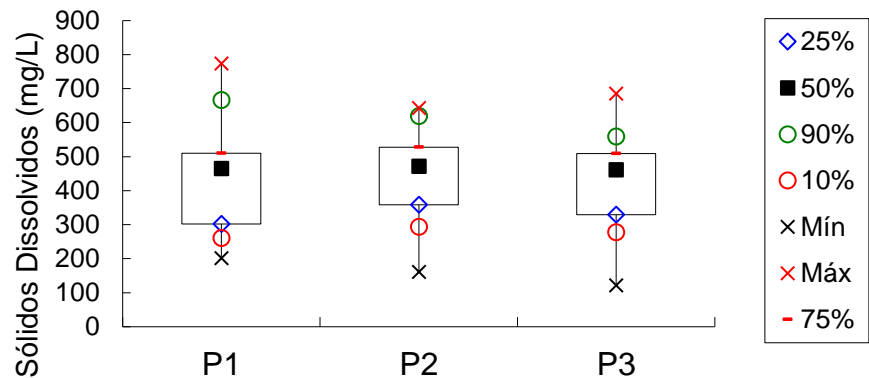
aeradores estão desligados e as válvulas fecham a saída do valo de oxidação, o reator aeróbio continua a receber o efluente do reator anaeróbio, prejudicando a sedimentação do lodo.

- Sólidos Dissolvidos

A variação dos sólidos dissolvidos no afluente foi de 202 a 774 mg/L, com média de 442 mg/L (Tabela 12, Figura 22). Esse resultado indica que o esgoto está caracterizado próximo a esgoto médio (500 mg/L) (METCALF; EDDY, 2003).

No efluente do UASB, a faixa de variação foi de 161 a 643 mg/L, com valor médio de 447 mg/L, já para o efluente do valo a faixa de variação foi de 122 e 686 mg/L, com valor médio de 423 mg/L. Para ambos os parâmetros, foi encontrada grande variação entre os valores de máximo e mínimo.

Figura 22 - Monitoramento dos Sólidos Dissolvidos.



Fonte: Autora (2020)

Tabela 11 - Estatística descritiva dos sólidos dissolvidos.

Sólidos Dissolvidos (mg/L)					
Ponto de Coleta	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	442	465	202	774	173
P2	447	464	161	643	144
P3	423	461	122	686	152

Fonte: Autora (2020)

- Sólidos Sedimentáveis

A concentração de sólidos sedimentáveis no afluente apresentou variação de 0,0 a 1,2 mL/L, com média de $0,5 \pm 0,4$ mL/L (Figura 23, Tabela 13), indicando se tratar de um esgoto muito diluído, uma vez que os valores típicos para esse parâmetro no esgoto bruto são de 5 a 20 mL/L (LEME, 2010).

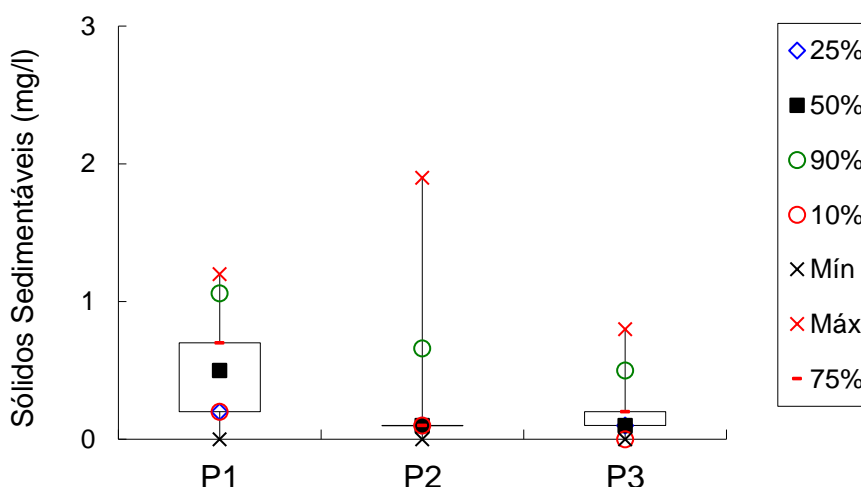
A concentração de sólidos sedimentáveis do efluente do UASB variou de 0,0 a 1,9 mL/L, com média de $0,3 \pm 0,5$ mL/L. No efluente final da ETE (efluente do valo de oxidação), a concentração final variou de 0,0 a 0,8 mL/L, com média de $0,2 \pm 0,2$ mL/L. Os valores encontrados, em todas as coletas, estão abaixo do exigido pela Resolução CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011) que estabelece valor máximo de material sedimentável de 1 mL/L para o efluente de Estações de Tratamento de Esgotos.

Tabela 12 - Estatística descritiva dos sólidos sedimentáveis.

Ponto de Coleta	Sólidos Sedimentáveis (mL/L)				
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P1	0,5	0,5	0,0	1,2	0,4
P2	0,3	0,1	0,0	1,9	0,5
P3	0,2	0,1	0,0	0,8	0,2

Fonte: Autora (2020)

Figura 23 - Monitoramento dos Sólidos Sedimentáveis



Fonte: Autora (2020)

Os valores médios de sólidos suspensos no período em análise para os pontos de coleta foram de 63,5 mg/L para P1, 24,83 mg/L para P2 e 14,5 mg/L para o P3. Para os sólidos dissolvidos, os valores médios foram de 312 mg/L para P1, 304 mg/L para P2 e 314mg/L para P3. Já para os sólidos sedimentáveis, as concentrações médias foram bem pequenas, tendo como resultado os valores de 0,63 mg/L, 0,08 mg/L e 0,12 mg/L.

Os baixos valores encontrados de sólidos nas amostras podem estar relacionados com baixa carga orgânica no esgoto bruto associada às características da população que utiliza o sistema.

5.1.6 Índice Volumétrico do Lodo (IVL)

O IVL é o índice mais usado como ferramenta de controle do processo de sedimentabilidade do lodo e significa o volume, em mililitros, ocupado por grama de lodo após uma sedimentação de trinta minutos. Com esse parâmetro é possível obter informações sobre a habilidade de sedimentação dos flocos formados no valo de oxidação. De acordo com Sant'Anna Jr. (2010), quanto menor for o seu valor, melhor é a capacidade de sedimentação do floco biológico.

Sistemas de lodos ativados com boas propriedades de sedimentação, geralmente apresentam IVL entre 50 e 100mL/g. Os sistemas com sedimentação mediana apresentam faixa entre 100 a 200mL/g e com má sedimentação, entre 200 e 300mL/g (VON SPERLING, 2016).

No presente estudo, observou-se que os valores obtidos apresentaram grandes oscilações, com média de $118,8 \pm 51,5$ mL/g (Tabelas 14 e 15). O valor máximo obtido na 7ª coleta, foi de 204 mL/g e está na faixa de valores de IVL que corresponde a uma sedimentabilidade ruim do lodo (200 – 300 mL/g), já o valor mínimo de 74,5 mL/g foi obtido na última coleta e encontra-se na faixa considerada de boa sedimentabilidade do lodo (50 – 100 mL/g).

No entanto, na maior parte do período de monitoramento (5 coletas), foram obtidos valores de IVL na faixa tida como média (100-200 mL/g). Isso indica que o lodo, no geral, apresenta sedimentabilidade mediana, colaborando para que a qualidade do efluente final não seja tão boa, sendo perdido material sólido no efluente tratado.

Tabela 13 - Resultado do monitoramento do IVL.

IVL (mL/g)								
Ponto de Coleta	Coleta							
	6	7	8	9	10	11	12	13
	21/mai	28/mai	04/jun	11/jun	18/jun	17/set	24/set	12/nov
P4	90,11	204,4	95,56	96,62	195,85	80,97	113,22	74,1

Fonte: Autora (2020)

Tabela 14 - Estatística descritiva do IVL.

IVL (ml/g)					
Ponto de Coleta	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	D. Padrão
P4	118,8	96,1	74,1	204,4	51,5

Fonte: Autora (2020)

5.1.7 Relação Alimento/Micro-organismos (A/M)

A relação A/M é um parâmetro importante para o controle operacional do valo de oxidação e mede a razão entre o alimento presente no esgoto afluente e os micro-organismos presentes no reator. Desta forma, quanto maior a relação A/M, maior será a quantidade de matéria orgânica a ser assimilada pelos micro-organismos, o que resulta em um desempenho menor do reator (VON SPERLING, 2007c).

Os valores obtidos no presente estudo não apresentaram variações significativas e se distribuíram na faixa de 0,30 a 0,48, sendo que na última coleta o valor foi de 0,02 (Tabela 16), o que coincide com a menor vazão afluente encontrada para todo período de monitoramento (0,14 L/s), logo houve uma redução no fornecimento do alimento que é encontrado no esgoto afluente.

Tabela 15 - Resultado do monitoramento da relação A/M.

Relação A/M							
Coleta	6	7	8	10	11	12	13
Data	21/mai	28/mai	04/jun	18/jun	17/set	24/set	12/nov
A/M (kgDQO/kgSSV.d)	0,30	0,43	0,36	0,48	0,40	0,41	0,02

Fonte: Autora (2020)

Como o valor médio A/M foi de $0,34 \pm 0,2$ kgDQO/kgSSV.d, percebe-se que esse parâmetro está situado no limite inferior da faixa de valores típicos de A/M para lodos ativados

convencional que é de 0,30 a 0,80 kgDQO/kgSSV.d (VON SPERLING, 2007c). No entanto, esse parâmetro está abaixo do valor de projeto usado no dimensionamento do reator, que foi de 0,80 kgDQO/kgSSV.d.

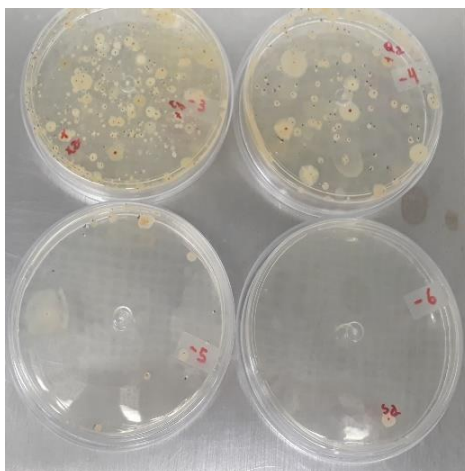
Os baixos valores de A/M podem ser explicados pela baixa carga orgânica afluyente à ETE e por haver tratamento prévio no reator UASB. Para que fosse elevada essa relação, seria necessário ser fornecida maior carga de DQO, considerando estável a concentração da biomassa.

5.2 Monitoramento microbiológico

5.2.1 Caracterização morfológica

Após a semeadura, diferentes espécies de bactérias se desenvolveram em uma mesma placa (Figura 24) no intervalo entre 24 e 72 horas após inoculação.

Figura 24 - Placas com colônias de bactérias de diferentes gêneros.



Fonte: Autora (2020)

As cepas isoladas foram purificadas após repiques sucessivos e caracterizadas morfolologicamente, sendo identificados predominantemente bacilos (41%), seguidos de cocobacilos (36%) e cocos (23%) (Quadro 14).

O resultado obtido foi coerente com o obtido por Cordi *et al.* (2008) que analisaram a operação de um sistema de lodos ativados em escala de laboratório e obtiveram como resultado da análise morfológica o predomínio de bactérias com o formato de bacilos e cocos.

Quadro 14 - Caracterização celular dos isolados bacterianos.

Data	Identificação dos isolados	Coloração Gram	Forma
28/05/2019	IBAnD3 -1	-	Cocobacilos
	IBAnD3 -2	-	Cocos
	IBAnD3 -3	-	Bacilos
	IBAnD4 -4	-	Bacilos
	IBAnD4 -5	+	Cocos
04/06/2019	IBAnD5 -6	+	Bacilos
	IBAnD6 -7	+	Cocobacilos
	IBAnD4 -8	+	Bacilos
	IBAnD3 -9	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -10	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -11	-	Bacilos
17/09/2019	IBAnD4 -12	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -13	+	Cocos
	IBAnD4 -14	+	Bacilos
	IBAnD4 -15	-	Cocos
	IBAnD4 -16	-	Bacilos
	IBAnD4 -17	-	Bacilos
	IBAnD4 -18	-	Bacilos
	IBAnD4 -19	-	Cocobacilos
24/09/2019	IBAnD4 -20	-	Bacilos
	IBAnD4 -21	-	Bacilos
	IBAnD4 -22	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -23	+	Cocos
05/11/2019	IBAnD4 -24	-	Cocos
	IBAnD4 -25	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -26	+	Cocos
	IBAnD4 -27	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -32	-	Bacilos
	IBAnD4 -33	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -34	-	Cocobacilos
22/10/2019	IBAnD4 -28	-	Bacilos
	IBAnD4 -29	+	Cocobacilos
	IBAnD4 -30	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -31	-	Cocos
11/11/2019	IBAnD4 -35	-	Bacilos
	IBAnD4 -36	-	Bacilos
	IBAnD4 -37	-	Cocobacilos
	IBAnD4 -38	+	Cocos
	IBAnD4 -39	-	Cocobacilos

Fonte: Autora (2020)

Lozada *et al.* (2017) estudaram o lodo de estações de tratamento que recebiam esgoto de abatedouro de aves e, embora os isolados bacterianos apresentassem diversidade de cores, formas e tamanhos, acompanharam a tendência de predomínio de cocos e bacilos, sendo que quase 80% possuíam formado de cocos.

Neste trabalho, observou-se predomínio de bactérias Gram-negativas (82%). Na microbiota de sistemas de lodos ativados, em virtude dos micro-organismos selecionados crescerem sob forte pressão seletiva, o resultado obtido está coerente com a literatura que afirma que a maioria das bactérias presentes em lodos ativados é Gram-negativa (JENKINS; RICHARD; DAIGGER, 2003).

Um resultado semelhante foi obtido por Machado (2009) que propôs o uso da bioaugmentação como alternativa de pré-tratamento de efluentes de um sistema de lodos ativados para redução da toxicidade no efluente final. Na caracterização fenotípica realizada nas linhagens selecionadas para os testes de bioaugmentação, 95% eram Gram-negativas.

Cordi *et al.* (2010), durante aclimação de um sistema de lodos ativados a diferentes efluentes industriais, também obtiveram um resultado semelhante, encontrando somente bactérias Gram-negativas em sua análise.

De acordo com Bitton (2011), a presença de bactérias Gram-negativas é vital para os sistemas biológicos, uma vez que são responsáveis tanto pela degradação da matéria orgânica quanto pela transformação de nutrientes, além de produzirem polímeros que são necessários para formar os flocos.

5.2.2 Identificação bacteriana por MALDI-TOF

Um total de 39 isolados bacterianos foram examinados após crescimento em meio de cultura Mueller Hinton, sendo as análises foram realizadas em duplicata.

A identificação foi possível para 27 isolados (69,2%), conforme pode ser verificado no Quadro 15.

A caracterização das amostras é dependente tanto da qualidade do material a ser examinado quanto da quantidade de informações que estão disponíveis na biblioteca do MALDI-TOF. Desta forma, uma justificativa para as bactérias não identificadas é uma possível divergência de origem, uma vez que as amostras analisadas são de origem ambiental e o banco de dados do equipamento é alimentado principalmente com bactérias de origem clínica.

Na área clínica, o MALDI-TOF tem sido extensamente utilizado para a identificação de

micro-organismos envolvidos em infecções humanas, entretanto essa técnica também pode fornecer contribuições significativas na microbiologia ambiental.

Quadro 15 - Escores obtidos para cada isolado na classificação fornecida pelo *software* MALDI Biotyper

ID da Amostra	Micro-organismo (melhor combinação)	Valor do Escore
IBAnD4 -24	<i>Acinetobacter towneri</i>	2,06
IBAnD4 -25	<i>Acinetobacter towneri</i>	1,83
IBAnD4 -38	<i>Enterococcus faecium</i>	2,22
IBAnD4 -28	<i>Chryseobacterium gambrini</i>	1,96
IBAnD4 -30	<i>Acinetobacter junii</i>	1,83
IBAnD4 -31	<i>Acinetobacter junii</i>	2,23
IBAnD4 -20	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i>	2,05
IBAnD4 -21	<i>Bacillus cereus</i>	2,04
IBAnD4 -10	<i>Escherichia coli</i>	2,05
IBAnD3 -9	<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,97
IBAnD4 -12	<i>Enterobacter asburiae</i>	1,74
IBAnD4 -15	<i>Enterobacter asburiae</i>	1,94
IBAnD3 -1	<i>Enterobacter asburiae</i>	2,22
IBAnD4 -5	<i>Enterococcus hirae</i>	2,40
IBAnD3 -2	<i>Acinetobacter towneri</i>	2,34
IBAnD5 -6	<i>Bacillus cereus</i>	1,87
IBAnD6 -7	<i>Bacillus cereus</i>	1,86
IBAnD5 -6	<i>Bacillus cereus</i>	2,14
IBAnD4 -8	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1,74
IBAnD4 -36	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	1,92
IBAnD4 -23	<i>Enterococcus faecium</i>	2,29
IBAnD4 -13	<i>Bacillus cereus</i>	2,03
IBAnD4 -34	<i>Acinetobacter towneri</i>	1,79
IBAnD3 -3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,36
IBAnD4 -27	<i>Pseudoxanthomonas mexicana</i>	2,18
IBAnD4 -26	<i>Exiguobacterium sp</i>	1,78
IBAnD4 -32	<i>Enterococcus faecium</i>	2,15

Fonte: Autora (2020)

Nos trabalhos desenvolvidos por Lovecka *et al.* (2015) e Koubek *et al.* (2012) foi investigada a capacidade do MALDI-TOF para identificar isolados bacterianos obtidos de amostras de solo contaminado. Em ambos os trabalhos, não foi possível identificar todos os isolados e os que forneceram algum resultado não chegaram no nível de espécie. Esses trabalhos indicam assim a necessidade de haver um banco de dados mais completo e ambientalmente focado para ampliar a capacidade de identificação do MALDI-TOF em isolados de bactérias

ambientais.

O Quadro 16 apresenta um resumo dos micro-organismos que foram encontrados na amostra de licor misto do valo de oxidação. No total foram identificados 13 gêneros distintos de micro-organismos que foram: *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Chryseobacterium*, *Hydrogenophaga*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudarthrobacter*, *Klebsiella*, *Pseudoxanthomonas* e *Exiguobacterium*.

Quadro 16 - Diversidade dos micro-organismos encontrados no valo de oxidação identificados por MALDI-TOF com relação ao gênero e à espécie

Gênero	Espécie	Nº de isolados
<i>Acinetobacter</i>	<i>A. towneri</i>	4
	<i>A. junii</i>	2
<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>	1
<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i>	5
<i>Chryseobacterium</i>	<i>C. gambrini</i>	1
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>	3
	<i>E. hirae</i>	1
<i>Enterobacter</i>	<i>E. asburiae</i>	3
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	1
<i>Exiguobacterium</i>	<i>E. sp.</i>	1
<i>Hydrogenophaga</i>	<i>H. pseudoflava</i>	1
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>Pseudarthrobacter</i>	<i>P. oxydans</i>	1
<i>Pseudoxanthomonas</i>	<i>P. mexicana</i>	1
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. cohnii</i>	1
Total		27

Fonte: Autora (2020)

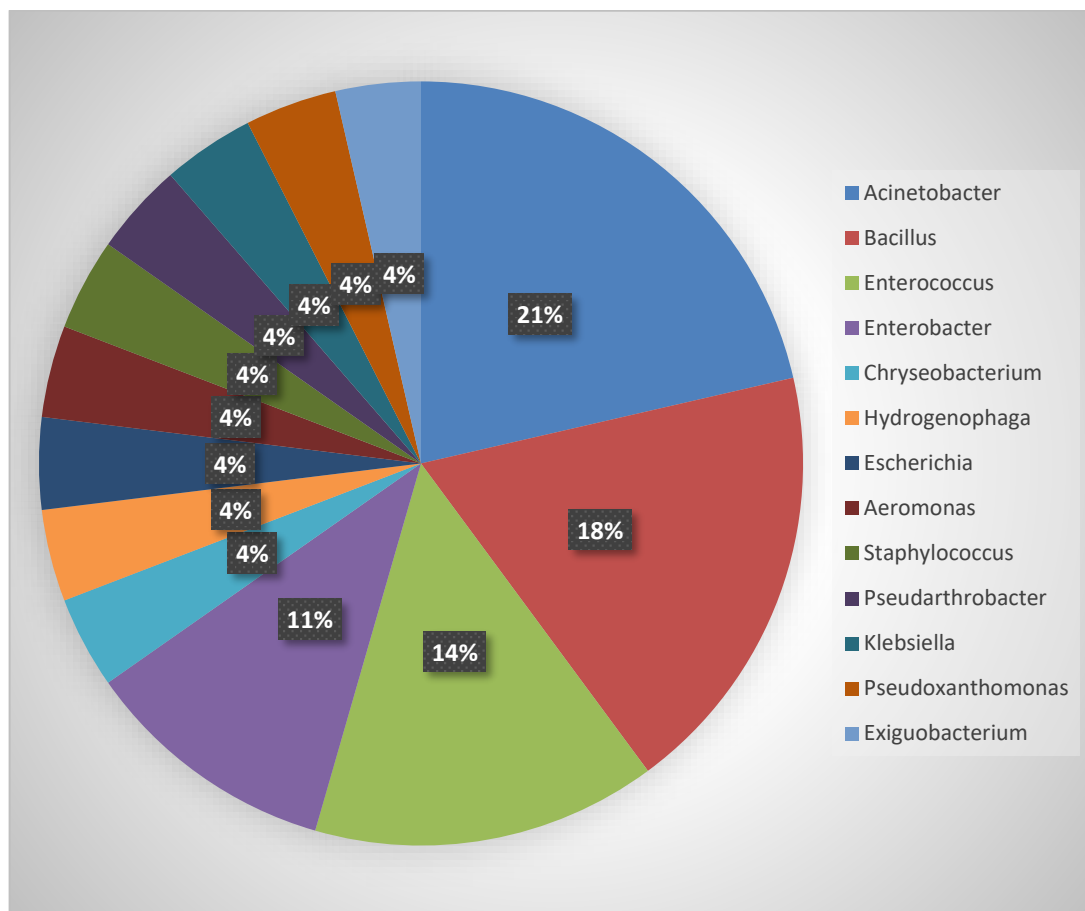
5.2.3 Prevalência bacteriana dos isolados identificadas por MALDI Biotyper

Após uma busca realizada na literatura, foram confirmadas as características fenotípicas das bactérias identificadas, com relação ao formato celular e as características de coloração de Gram. Para melhorar a visualização dos resultados obtidos, foi gerado o gráfico de frequência de cada um dos gêneros bacterianos encontrados (Figura 25).

Dentre as 27 bactérias identificadas (Quadro 16), os gêneros *Acinetobacter* (6 isolados), *Bacillus* (5 isolados), *Enterococcus* (4 isolados) e *Enterobacter* (3 isolados) se destacaram como predominantes. No entanto outros gêneros também foram identificados: *Chryseobacterium* (1), *Hydrogenophaga* (1), *Escherichia* (1), *Aeromonas* (1), *Staphylococcus*

(1), *Pseudarthrobacter* (1), *Klebsiella* (1), *Pseudoxanthomonas* e *Exiguobacterium* (1). A seguir são apresentadas as características de cada um dos gêneros encontrados.

Figura 25 - Frequência dos gêneros identificados por MALDI-TOF.



Fonte: Autora (2020)

- *Acinetobacter*

O gênero *Acinetobacter* é formado por bactérias estritamente aeróbias Gram-negativas que apresenta morfologia colonial variável, a depender da fase de crescimento em que se encontra, podendo ser vistas como cocobacilos ou cocos (MURRAY, 2007). Um benefício da presença dessa bactéria, no sistema de lodos ativados, é o controle do crescimento excessivo de bactérias filamentosas, devido à vantagem competitiva na captação da matéria orgânica (KIM; PAGILLA, 2003).

No estudo desenvolvido por Xia *et al.* (2020), foi identificado que o gênero *Acinetobacter* é capaz de remover nitrogênio, realizando nitrificação heterotrófica e desnitrificação aeróbica. A cepa foi isolada em uma amostra de lodos ativados, coletada na ETE que trata o efluente municipal gerado em Pequim (China) e, com base em suas características

filogenéticas e fenotípicas, foi possível realizar sua identificação.

De acordo com Yang *et al.* (2016), *Acinetobacter* é uma das principais bactérias dos sistemas de lodos ativados. Este gênero de micro-organismo faz parte do grupo de bactérias que está envolvido no processo de remoção de nitrogênio e de fósforo, uma vez que possui a capacidade de acumular polifosfato (JI *et al.*, 2015; MOTA, 2015; LANG *et al.* (2020).

A abundância de bactérias do gênero *Acinetobacter*, isoladas a partir das amostras que foram coletadas no valo de oxidação, é avaliada como coerente, uma vez que devido à alta tolerância e a adaptabilidade a condições ambientais adversas (presença de substâncias tóxicas), este gênero é encontrado facilmente na natureza, contribuindo para a biomineralização de compostos orgânicos (GALLEGO, 2016). As espécies de *Acinetobacter* identificadas foram *A. townneri* (4 isolados) e *A. junii* (2 isolados).

As bactérias *A. townneri* somente foram identificadas como novas espécies de *Acinetobacter* recentemente, isoladas de amostra obtida em um sistema de lodos ativados em Victoria (Austrália) CARR *et al.*, 2003).

Devido às suas potencialidades, as bactérias *A. junii* são amplamente estudadas, estando entre as primeiras espécies de *Acinetobacter* classificadas na literatura (BOUVET, GRIMONT, 1986). A predominância numérica encontrada para a bactéria *A. junii* durante o presente estudo pode ser explicada devido à sua ampla versatilidade metabólica e adaptativa, uma vez que, no trabalho desenvolvido por Costa (2015), este gênero foi isolado em amostras de rejeitos em todos os meios de cultura avaliados.

- *Bacillus*

As bactérias do gênero *Bacillus*, devido à sua capacidade de produzir esporos, conseguem sobreviver em condições ambientais extremas e nos mais diversos ambientes, incluindo estações de tratamento de esgoto. Este gênero domina os sistemas de tratamento aeróbio de águas residuais uma vez que os organismos desse filo conseguem metabolizar vários compostos incluindo carboidratos, proteínas, peptídeos e aminoácidos usados para gerar energia e promover o crescimento (KUMAR *et al.*, 2013; IVANOV, 2015). Sua temperatura ideal de crescimento é de 30° C, no entanto seus esporos conseguem sobreviver em valores mais altos de temperatura (BALA-AMUTHA; MURUGESAN, 2013).

No microscópio, esse gênero aparece como bacilos (a depender do seu estágio de crescimento) e fazem parte do grupo de bactérias Gram-positivas. São heterótrofos e aeróbios facultativos, ou seja, usam nitrato na respiração, sendo assim capazes de realizar etapa de desnitrificação do efluente sanitário (SILVA, 2009). Além disso também faz parte do grupo de

bactérias que estão envolvidas na formação de flocos, sendo amplamente encontrada nos flocos que estão dispersos no sistema de lodos ativados (SANT'ANNA JUNIOR, 2010).

A presença de espécies deste gênero é considerada importante para o processo de tratamento em sistemas de lodos ativado. Pesquisas recentes apontam que a predominância deste gênero melhora o desempenho de sistemas de lodos ativados, além de serem descritos como altamente eficiente na remoção de compostos orgânicos e de nitrogênio (IYO *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2011; HATAMOTO *et al.*, 2017).

Deng *et al.* (2017) relataram que uma maior abundância de micro-organismos desnitrificantes aceleram o processo de desnitrificação, melhorando assim o desempenho de remoção de nitrogênio. Este fato também foi relatado por Xia *et al.* (2014) que, analisando amostras de lodos ativados, correlacionaram positivamente a eficiência de remoção de nitrogênio total com a interação de bactérias desnitrificantes. Apesar desses estudos serem baseados em biorreatores em escala laboratorial, indicam que um entendimento abrangente sobre as estruturas de micro-organismos e a identificação dos principais contribuintes para a desnitrificação podem ajudar a otimizar e regular a remoção de nitrogênio (CAO *et al.*, 2020; DU *et al.*, 2019).

As bactérias do gênero *Bacillus*, devido à sua ampla versatilidade metabólica e resistência às condições ambientais, podem ser encontrados em diversos ambientes, por isso a prevalência relativa de bactérias deste gênero (12%), isoladas a partir das amostras coletadas do valo de oxidação é avaliada como coerente. A espécie de *Bacillus* identificada nesse estudo foi *B. cereus*.

Apesar de não ter sido realizada uma avaliação quanto à remoção de nitrogênio no valo de oxidação, a presença abundante da bactéria *Bacillus*, que tem capacidade de promover a desnitrificação do efluente, demonstra que pode estar havendo a remoção de nitrogênio do efluente tratado na ETE da UFS, evitando assim que ocorra a eutrofização do corpo de água receptor.

- *Enterococcus*

As bactérias gênero *Enterococcus* são anaeróbias facultativas e comumente são encontradas em amostras de esgoto uma vez que essa bactéria está presente no trato intestinal dos seres humanos (NACHTIGALL *et al.*, 2013). São capazes de resistir a ambientes básicos, com pH 9,6 e a ambientes salinos (concentrações de 6,5% de NaCl). Crescem geralmente entre 10°C e 45°C, apesar de sua temperatura ideal de crescimento ser próximo de 35°C (TOP; WILLEMS; BONEN, 2008).

Este tipo de micro-organismo é Gram-positivo, não formador de esporos e tem o formato de cocos que podem ocorrer isoladamente, em pares ou em cadeias curtas. Esse gênero inclui pelo menos 54 espécies que diferem em produção de pigmentos, motilidade e habilidade de produzir ácidos a partir de carboidratos variados. No entanto as espécies mais frequentes de serem isoladas são *E. faecium* e *E. faecalis* (FERNANDES, 2010; TEIXEIRA *et al.*, 2011; SACRAMENTO, 2015; CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA; ZADERNOWSKA; GARCÍA-SOLACHE, 2020).

Espécies de *Enterococcus* são utilizadas como indicador bacteriológico para avaliar a contaminação ambiental e a potabilidade da água, mensurando assim os riscos à saúde pública, pois, mesmo após o tratamento de efluentes, os *Enterococcus* ainda podem ser lançados nos corpos de água receptores, caracterizando assim um foco disseminador de patógenos (IVANOV, 2015).

Analisando amostras coletadas do sistema de lodos ativados em uma estação de tratamento de esgoto, Luczkiewics *et al.* (2013) obteve como resultado do isolamento de bactérias os gêneros de *Enterococcus* sp. e *Escherichia coli*. Já Cheng *et al.* (2012), analisando a eficiência de remoção de patógenos em quatro ETE a noroeste da Irlanda, que utiliza o sistema de lodos ativados, detectaram em todas as amostras espécies de *E. faeciu* e *E. faecalis*.

Neste trabalho, *Enterococcus* também foi um dos gêneros de bactérias que se encontrou predominantemente nas amostras coletadas, com frequência de aparecimento relativa de 14%. As espécies identificadas foram *E. faecium* e *E. hirae*.

Os resultados obtidos corroboram com as espécies encontradas frequentemente em amostras de lodos ativados, uma vez que essas bactérias estão sempre presentes nos esgotos domésticos devido à sua predominância no trato gastrointestinal dos seres humanos e animais (GALLERT; FUND; WINTER, 2005; CAMERON *et al.*, 2019).

- *Enterobacter, Klebsiella e Escherichia*

Os gêneros de bactérias *Enterobacter, Klebsiella e Escherichia* pertencem à família Enterobacteriaceae e, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (2014), em seu Relatório Global de Vigilância sobre Resistência Bactérias, fazem parte do grupo de bactérias nativas intestinais.

As bactérias desses gêneros são anaeróbios facultativos, ou seja, conseguem crescer tanto em condições aeróbias quanto anaeróbias, onde o suprimento de oxigênio é limitado. Além disso são Gram-negativas, sendo caracterizadas como bacilos (BLOUNT, 2015; DAVIN-

REGLI *et al.*, 2016; YOUSFI *et al.*, 2019; RAJKUMARI *et al.*, 2020).

Os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* têm a capacidade de degradar um amplo espectro de carboidratos, além de fermentar glicose a vários outros compostos e reduzir nitrato (POLETO *et al.*, 2016).

Ambos os gêneros tem a capacidade de fixar o nitrogênio do ambiente (MADIGAN *et al.*, 2016). Vários estudos relataram a grande capacidade demonstrada por algumas bactérias, especialmente os gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter*, de conseguirem realizar o processo de nitrificação e acumulação intracelular de fosfato (SU *et al.*, 2016; SU *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019b).

No estudo realizado por Su *et al.* (2016), foi descoberta a capacidade da *Klebsiella* de reduzir simultaneamente ferro (Fe^{3+}) e nitrato sob diferentes condições de pH. A temperatura e o pH ideais para aumentar as taxas de remoção do nitrato encontrados foram respectivamente 7 e 35°C, já para a redução de Fe^{3+} , o pH e temperatura ideais foram de 6 e de 30°C respectivamente.

Já no estudo de Su *et al.* (2019), foi demonstrado que o gênero *Enterobacter* pode promover a desnitrificação e remover simultaneamente o níquel (II). Os resultados apresentaram taxa máxima de remoção de nitrato de 95,02% e de 75,99% para o Ni (II) em um pH de 7,37.

O gênero *Enterobacter* também fez parte das principais bactérias encontradas no ensaio do MALDI-TOF. No nível de espécie foi identificada a *E. asburiae* nos 3 isolados identificados, o que representa uma frequência de 11%. Esta espécie também foi encontrada no estudo realizado por Antunes, Ballarini e Sand (2019) que, usando análise molecular e o MALDI-TOF, avaliou a comunidade de bactérias heterótrofas presente no sistema de lodos ativados de uma ETE do Polo Petroquímico do Sul, localizado em Triunfo (Rio Grande do Sul).

Com relação aos gêneros *Klebsiella* e *Escherichia*, as espécies identificadas foram *K. pneumoniae* e *E. coli*, respectivamente. Apesar de fazerem parte da microbiota intestinal e serem comumente encontrado na literatura, a frequência de identificação desses gêneros no presente estudo foi de 4%, sendo identificado apenas 1 isolado de cada uma dessas espécies.

Juntamente com a *E. coli*, também fazem parte do grupo de coliformes termotolerante as espécies *K. pneumoniae*, a *E. asburiae*, entretanto estas duas espécies não apresentam a mesma abordagem na legislação vigente do CONAMA N° 430 (BRASIL, 2011) e do CONAMA N° 357 (BRASIL, 2005) devido ao fato de serem nativas do ambiente.

Com base na propriedade dos gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter* de fixarem nitrogênio

do meio, é possível inferir que, no valo de oxidação da ETE da UFS, pode estar ocorrendo o processo de nitrificação.

- Outros gêneros

Também foram isoladas e identificadas bactérias pertencentes aos gêneros: *Chryseobacterium* (1), *Hydrogenophaga* (1), *Aeromonas* (1), *Staphylococcus* (1), *Pseudarthrobacter* (1), *Pseudoxanthomonas* e *Exiguobacterium* (1). Entretanto nenhum desses gêneros apresentaram destaque com relação a frequência de aparecimento que ficou em 4% para cada um.

- *Chryseobacterium*

As bactérias do gênero *Chryseobacterium* fazem parte da família Flavobacteriaceae e apresentam crescente número de espécies que podem ser encontradas em amplo espectro de fontes ambientais, como por exemplo o sistema de lodos ativados (MENG *et al.*, 2020). São Gram-negativas, aeróbias e apresentam o formato de bastonetes. Comumente são encontradas em águas residuárias e no sistema de tratamento de esgoto (KÄMPFER *et al.*, 2003; YOON; KANG; OH, 2007; MENG *et al.*, 2020). Desempenham papel importante no tratamento de efluentes devido à sua propriedade de nitrificação e desnitrificação (YOON; KANG; OH, 2007; WAHEED *et al.*, 2013).

A propriedade de remoção simultânea de carbono orgânico e nitrogênio da *Chryseobacterium* foi estudado por Kundu *et al.* (2014).

- *Hydrogenophaga*

As bactérias do gênero *Hydrogenophaga* pertencem à família Comamanadaceae, são aeróbios ou anaeróbios facultativos e têm o formato de bastonete (YANG *et al.*, 2017).

Até o momento várias espécies de *Hydrogenophaga* foram identificadas a exemplo da *H. flava*, *H. pseudoflava*, *H. palleronii*, *H. taeniospiralis*, *H. soli* e das *H. defluvii*, *H. atypica* e *H. borbori* que foram isoladas de um sistema de lodos ativados (WILLEMS *et al.*, 1989; KÄMPFER *et al.*, 2005; YANG *et al.*, 2017, CHOI, *et al.*, 2020).

Uma das principais características deste gênero é a capacidade de degradar vários poluentes orgânicos, além de serem capazes de utilizar o hidrogênio como fonte de energia (REDDY *et al.*, 2016; XING *et al.*, 2018). No estudo realizado por Ji *et al.* (2016) que tinha por objetivo isolar bactérias capazes de suportar uma concentração de 20 mM de alumínio em um sistema de lodos ativados, o gênero *Hydrogenophaga* além de conseguir degradar amônia,

alcançou um desempenho de remoção de nitrato de 94% e de nitrogênio de 76,8%, após 36 horas, com concentrações iniciais de 148,8 mg/L para o nitrato e 151,7 mg/L para o nitrogênio.

- *Aeromonas*

O gênero *Aeromonas* consiste em bacilos Gram-negativos que pertencem à família Aeromonadaceae (RYAN; HIGGINS; DOYLE, 2017). Espécies desse gênero são anaeróbios facultativos e estão presentes em vários ecossistemas aquáticos, incluindo o esgoto bruto, águas residuais tratadas e em sistemas de lodos ativados (PIOTROWSKA *et al.*, 2017). Estudos recentes apontam que *Aeromonas* estão entre os principais gêneros dominantes em comunidades de águas residuais e que a qualidade do efluente está correlacionada positivamente com a abundância deste gênero (CHEN *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2016; PENG; HUANG; REN, 2018).

No estudo realizado por Peng, Huang e Ren (2018), apenas a abundância de *Aeromonas* exibiu correlação positiva com a remoção de DQO e do nitrogênio. Além disso, este tipo de bactéria também está envolvido no processo de remoção biológica de fósforo dos esgotos (KANG *et al.*, 2018; FU *et al.*, 2019).

- *Staphylococcus*

O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcaceae composta por mais de 30 espécies das quais a maioria pode ser encontrada em amostras biológicas de origem humana. São Gram-positivas, não esporuladas, anaeróbias facultativas e têm o formato de cocos, podendo aparecer no exame microscópico em cadeias curtas ou em cachos (Madigan *et al.*, 2016).

Geralmente esse gênero de bactéria faz parte da microbiota humana, sendo frequentemente relacionada a várias infecções humanas (TAYLOR; UNAKAL, 2017). Dessa forma, a presença desse tipo de bactéria é facilmente identificada nos sistemas de tratamento de esgoto, sendo uma de suas propriedades mais relevantes para o tratamento biológico, a capacidade de se aglomerar em estruturas, formando assim o biofilme.

No estudo realizado por Kitt *et al.* (2019), foi investigada a capacidade de formação de biofilme de várias espécies de *Staphylococcus* e como resultado foi constatado que 87,3% eram produtores de biofilme. Entre as principais espécies formadoras, destacaram-se *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. cohnii* e *S. hominis*. Esse resultado obtido foi similar ao encontrado por Shrestha, Bhattarai e Khanal (2017) que reportaram que 85% dos isolados eram produtores de biofilme.

- *Pseudarthrobacter*

Esse gênero pertence à família Micrococcaceae. São Gram-positivas, aeróbias e têm o formato de bastonete em sua fase inicial, já ao atingir a fase de crescimento estacionário, apresentam o formato de cocos (BUSSE; WIESER, 2016).

Além da propriedade de formação de biofilmes, apresentam também um alto potencial de biorremediação degradando a ureia, removendo a amônia e metais pesados (YOTOVA, *et al.*, 2009; SOKHADZE *et al.*, 2017).

- *Exiguobacterium*

Da família Bacillaceae, o gênero *Exiguobacterium* é formado por bactérias anaeróbias facultativas, Gram-positivas, com morfologias que variam de pequenos bastonetes a cocos, que podem ser encontrados isolados, em pares ou em correntes (COLLINS, 2015).

Esse gênero possui a capacidade de se adaptar a grande variedade de ambientes hostis, podendo sobreviver a condições adversas que incluem variação de temperatura, pH e salinidade, altos níveis de luz UV e pressão atmosférica e até a presença de compostos tóxicos (REMONSELLEZ *et al.*, 2018).

Esse gênero também é típico dos sistemas de tratamento de esgoto, encontrado em amostras de lodos ativados (LEE *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2013). No estudo realizado por Dang *et al.* (2020), foi identificado o gênero de *Exiguobacterium*, juntamente com *Kluyvera*, *Exiguobacterium*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, e *Pseudomonas*, na amostra coletada do tanque de areação de um sistema de lodos ativados em escala de piloto, instalada na estação de tratamento de esgoto de Kim Lien, Centro de Hanói.

Swayama (2006) identificou que *Exiguobacterium* sp. está envolvido no processo de oxidação de amônia. Essa característica também foi encontrada no estudo realizado por Kouki *et al.* (2011) que, baseado na capacidade de remoção da amônia, identificou as bactérias facultativas *Bacillus*, *Exiguobacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* e *Bordetella* como predominantes no sistema de tratamento de esgoto e que contribuem significativamente para remoção de nitrogênio por meio da nitrificação e desnitrificação.

- *Pseudoxanthomonas*

O gênero *Pseudoxanthomonas* é da família Xanthomonadaceae e compreende bactérias Gram-negativas aeróbias em forma de bastonete (LIPSKI; STACKEBRANDT, 2015).

Uma de suas principais características é a remoção de nutrientes que foi inicialmente

descrita como excelente para redução de nitrito, entretanto recentemente foi descoberto que cepas de *Pseudoxanthomonas*, em ambientes anóxicos, podem remover tanto nitrito quanto nitrato durante o processo de desnitrificação (LIPSKI.; STACKEBRANDT, 2015; MENG *et al.*; 2015). No estudo conduzido por Gan, Zhao, Ye (2019) os resultados experimentais identificaram o gênero *Pseudoxanthomona* como um dos principais na completa remoção do nitrato.

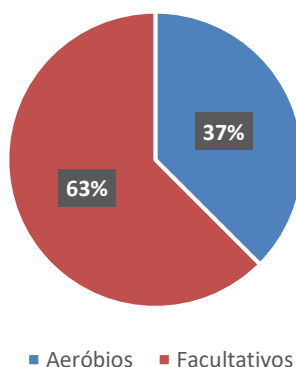
Já no estudo conduzido por Wang *et al.* (2018), o gênero *Pseudoxanthomonas* sp., isolada de um reator aeróbio por batelada sequencial, realizou simultaneamente a remoção de nitrogênio e fósforo, ampliando assim sua aplicação potencial para os sistemas de tratamento de esgoto.

Por serem metabolicamente versáteis e possuírem a capacidade de fixação de nitrogênio, o gênero *Pseudoxanthomonas* são frequentemente identificados nos mais diversos ambientes, a exemplo de solos contaminados e estações de tratamento de esgoto (Lu *et al.*, 2019; SREENIVASA *et al.*, 2019).

No estudo conduzido por Xavier (2017), em sistema de lodos ativados em escala piloto, encontrou uma abundância relativa do gênero *Pseudoxantomona* que contribuiu tanto para o desenvolvimento dos grânulos da biomassa aeróbia quanto para os processos de remoção de nitrogênio (nitrificação e desnitrificação).

Com base nas informações encontradas nos estudos a respeito de cada um dos gêneros isolados, é possível inferir que 63% das bactérias identificadas são facultativas e apenas 37% são aeróbias estritas, o que está de acordo com as baixas concentrações de OD no tanque de aeração (Figura 26).

Figura 26 - Frequência de bactérias facultativas e aeróbias estritas identificadas por MALDI-TOF



Fonte: Autora (2020)

Também se observada que os gêneros encontrados são característicos dos sistemas de tratamento de esgoto, uma vez que a maioria habita no trato gastrointestinal dos seres humanos e dos animais, e apresentam grande importância para o tratamento, visto que possuem propriedades de remoção de matéria orgânica, remoção de nutrientes e estruturação da biomassa.

5.2.4 Comunidade bacteriana

Durante o período monitorado, foi realizada a quantificação das bactérias heterótrofas presentes no tanque de aeração por meio da contagem em placas e estimativa da quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) (Tabela 17). Na coleta 10, não foi possível fazer a análise de quantificação das bactérias devido ao fato do laboratório LMO estar indisponível.

Tabela 16 - Quantificação das bactérias heterótrofas presentes no licor misto do valo de oxidação.

Coleta	Data	Bactérias heterótrofas (UFC/mL)
1	21/mai	$4,50 \times 10^5$
2	28/mai	$1,05 \times 10^5$
3	04/jun	$8,50 \times 10^5$
4	11/jun	$1,66 \times 10^6$
5	18/jun	$1,26 \times 10^6$
6	17/set	$5,80 \times 10^6$
7	24/set	$1,40 \times 10^6$
8	01/out	$4,90 \times 10^6$
9	08/out	$2,10 \times 10^7$
11	29/out	$4,10 \times 10^7$
12	05/nov	$2,50 \times 10^7$
13	12/nov	$2,40 \times 10^7$
Média		$1,06 \times 10^7$

Fonte: Autora (2020)

A concentração de bactérias encontrada ao longo do período de análise apresentou grande variação, o que pode estar relacionado à adaptação das mesmas ao substrato fornecido

e às condições operacionais do reator, uma vez que seu crescimento é influenciado por condições ambientais adversas como variação de temperatura, pH, baixas concentrações de OD, falta de suprimento de substrato devido às baixas concentrações de matéria orgânica e das pequenas vazões de esgoto que chegam na estação, entre outros.

Até a quinta coleta, o reator estava funcionando com apenas um aerador, com concentração média de $8,65 \times 10^5$ UFC/mL. Os maiores valores de concentração foram encontrados na segunda fase de coletas que compreendeu o período entre a 6ª e a 13ª coleta, com valor médio de $1,76 \times 10^7$ UFC/mL, o que pode indicar que o grupo de bactérias heterotróficas está com melhores condições de operação. Nessa segunda fase, os dois aeradores estavam em funcionamento fornecendo mais oxigênio para o sistema.

Trabalho realizado por Mendonça (2002), no qual se avaliou o desempenho de um sistema combinado em escala piloto, utilizado um sistema composto por reator anaeróbico de leito expandido seguido por lodos ativados, obteve-se o valor variando entre 10^9 e 10^{12} UFC/mL. Por utilizar um sistema piloto como objeto de estudo, as condições operacionais ideais são mais fáceis de serem controladas do que um sistema em escala real, o que pode ter contribuído para a diferença entre o número de bactérias encontrado, juntamente com a diferente temperatura de incubação das placas, 30°C em Mendonça (2002) e 35°C neste trabalho.

Oliveira (2012) também obteve uma contagem bem maior que a média obtida para as 13 coletas realizadas. Em seu trabalho, o autor, utilizando um reator de leito móvel para o tratamento de águas residuárias com altas concentrações de nitrogênio, monitorou os micro-organismos envolvidos na remoção de matéria carbonácea e nitrogenada de lixiviado de aterro de resíduos sólidos sem prévio tratamento e pela técnica de contagem em placas, obteve para a amostra coletada em meio líquido no 56º dia de operação do sistema, a quantidade de bactérias heterótrofas de $3,10 \times 10^{10}$ UFC/mL.

Como as bactérias heterótrofas são um dos principais micro-organismos envolvidos no tratamento de efluentes, sua abundância relativa torna-se um indicativo de que o sistema está desempenhando boa remoção de matéria orgânica. No entanto, a diferença significativa observada nesse trabalho está associada com as condições operacionais que a ETE da UFS está sendo submetida.

Um dos fatores que contribui para o menor número de bactérias encontradas no sistema é a baixa concentração de oxigênio dissolvido no sistema, que fica em torno de 15 horas sem os aeradores serem ligados, o que afeta fortemente na manutenção das atividades metabólicas

das bactérias o que faz com que as bactérias não se desenvolvam provocando uma menor eficiência do tratamento.

A limitação das concentrações de substrato disponível também influencia diretamente no crescimento das bactérias, o que também contribui para reduzir a eficiência do tratamento e como consequência uma qualidade menor do efluente final.

5.2.5 Protozoários e metazoários

A quantificação dos protozoários e metazoários nas amostras analisadas foi realizada de forma subjetiva, comparando a frequência em que eram observados (Quadro 17).

As amostras coletadas têm a característica de serem bem diluídas, o que pode ter contribuído para a aparente baixa frequência desses micro-organismos. Apesar disso, foi quase sempre encontrada uma microfauna habitual, característica de sistemas de lodos ativados, com os mesmos protozoários (ciliados e flagelados), porém com frequências variáveis.

Com relação aos metazoários, foi observada a presença desses organismos nas coletas 1 e 6 com uma frequência rara. Já na coleta 9, foi observada abundância relativa de várias espécies desses micro-organismos, o que pode estar relacionado com a elevada capacidade de mistura promovida pelo sistema de aeração, já que no momento da coleta foi observada a maior concentração de oxigênio dissolvido em todo período analisado (Apêndice A).

A ausência de anelídeos em todas as coletas é um indicativo que a concentração de OD no sistema não está elevada, já que a predominância desse micro-organismo identifica um excesso de oxigênio no processo e efluente de boa qualidade. Já a ausência de amebas e tecamebas indica que o sistema não está operando com boas condições de depuração da matéria orgânica, uma vez que esse tipo de protozoário apresenta a característica de polir o efluente. (VAZOLLÉR *et al.*, 1989; CAICEDO; ROSENWINKE; NOGUEIRA, 2018).

No Quadro 18, são apresentados protozoários e metazoários que foram identificados ao longo das análises e a semelhança com os gêneros descritos. Este reconhecimento foi baseado na descrição realizada por Streble e Krauter (1987). No total, foram identificados 12 micro-organismos diferentes, embora ciliados livre-nadantes e fixos foram claramente predominantes no sistema em quase todas as coletas.

Quadro 17 - Frequência de aparecimento protozoários e metazoários no licor misto.

Micro-organismos	Amostras												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Protozoários	21/mai	28/mai	04/jun	11/jun	18/jun	17/set	24/set	01/out	08/out	22/out	29/out	05/nov	12/nov
Ciliados (fixos e livres)	3	3	2	1	1	2	1	1	4	0	1	4	4
Flagelados	3	3	2	1	1	2	2	0	4	1	0	1	2
Amebas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tecameba	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Metazoários													
Nematódeos	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Anelídeos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rotíferos	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
Escala qualitativa de frequência: 0 = nenhuma; 1 = rara; 2 = comum; 3 = muito comum; 4 = abundante													

Fonte: Autora (2020)

Quadro 18 – Protozoários e metazoários identificados no licor misto e semelhança com os gêneros descritos.

Grupo	Gênero
Rotíferos	<i>Brachionus</i> sp. <i>Proales</i> sp. <i>Enicentrum</i> sp.
Gastrotricha	<i>Chateonotus</i> sp.
Nematoides	<i>Monhystera</i> sp.
Ciliados fixos	<i>Vorticella</i> sp.
Ciliados livre-nadantes	<i>Paramecium</i> sp. <i>Frontonia</i> sp. <i>Strombilidium</i> sp <i>Nassula</i> sp.
Ciliados predadores de flocos	<i>Aspidisca</i> sp <i>Euplotes</i> sp.

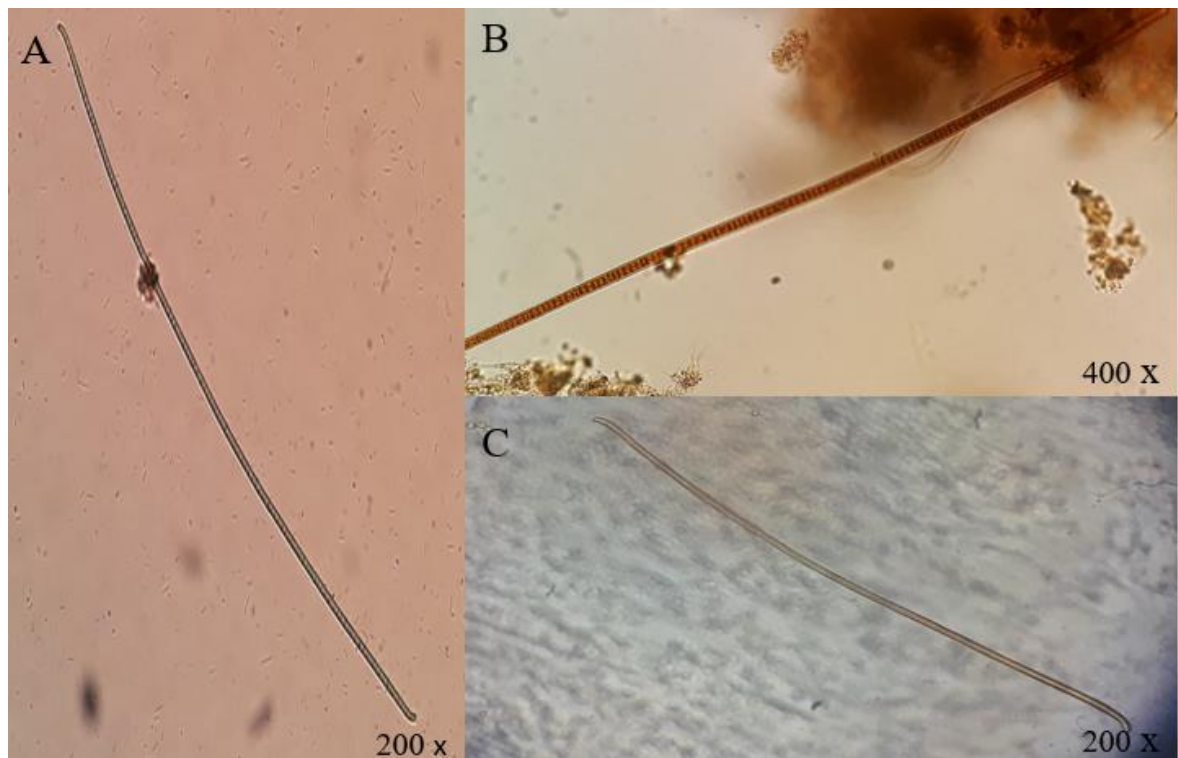
Fonte: Autora (2020)

Nas Figuras de 27 a 33, são apresentadas as imagens tiradas durante a observação ao microscópio dos diversos tipos de organismos encontrados. Além dos protozoários e metazoários, também foram encontradas cianobactérias que, segundo Rawat *et al.* (2011) e Cuellar-Bermudez *et al.* (2017), no tratamento de efluentes, contribuem para a remoção de poluentes orgânicos e nutrientes como nitrogênio e fósforo, uma vez que esse tipo de micro-organismo usa a luz solar como fonte de energia, juntamente com os nutrientes inorgânicos para formar energia bioquímica por meio da fotossíntese. Como os sistemas de tratamento em escala real recebem luz do ambiente e são ricos em nutrientes e CO₂, acabam favorecendo a proliferação de cianobactérias.

Os gêneros de cianobactérias mais frequentes de serem encontrados em sistemas de esgoto, por fazerem parte da formação do biofilme são *Lyngbya* e *Oscillatoria* (CUELLAR-BERMUDEZ *et al.*, 2017). Esses gêneros foram encontrados por Vasconcelos e Pereira (2001) no reator aeróbio que tratava efluente de uma indústria agropecuária.

No presente estudo, foi possível identificar como cianobactéria o gênero *Oscillatoria* (Figura 27), o que está de acordo com as pesquisas realizadas em sistemas de tratamento de esgoto.

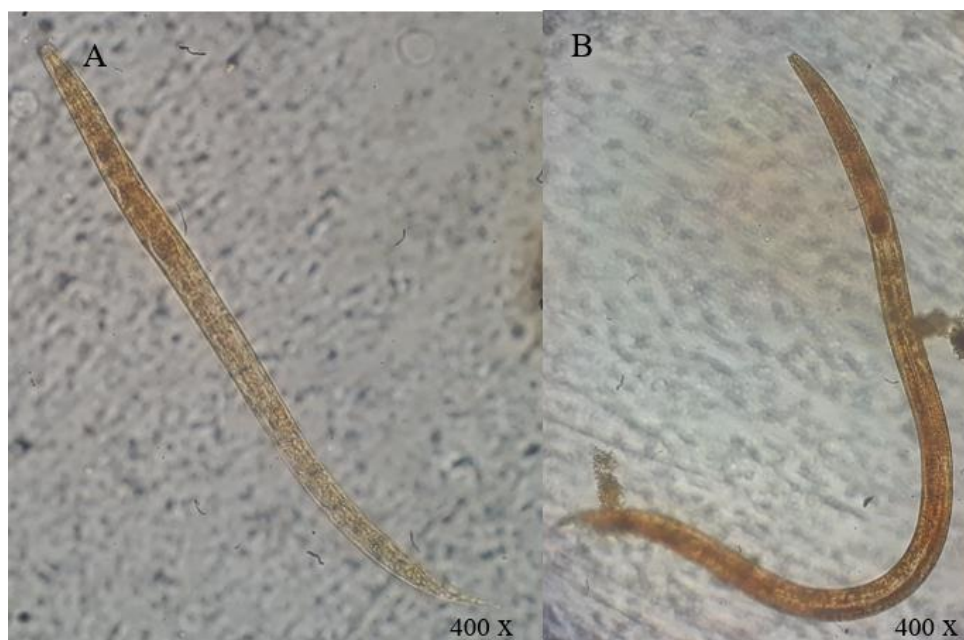
Figura 27 - Presença de Cianobactérias.



A), B) e C) Semelhantes a *Oscillatoria* sp.

Fonte: Autora (2020)

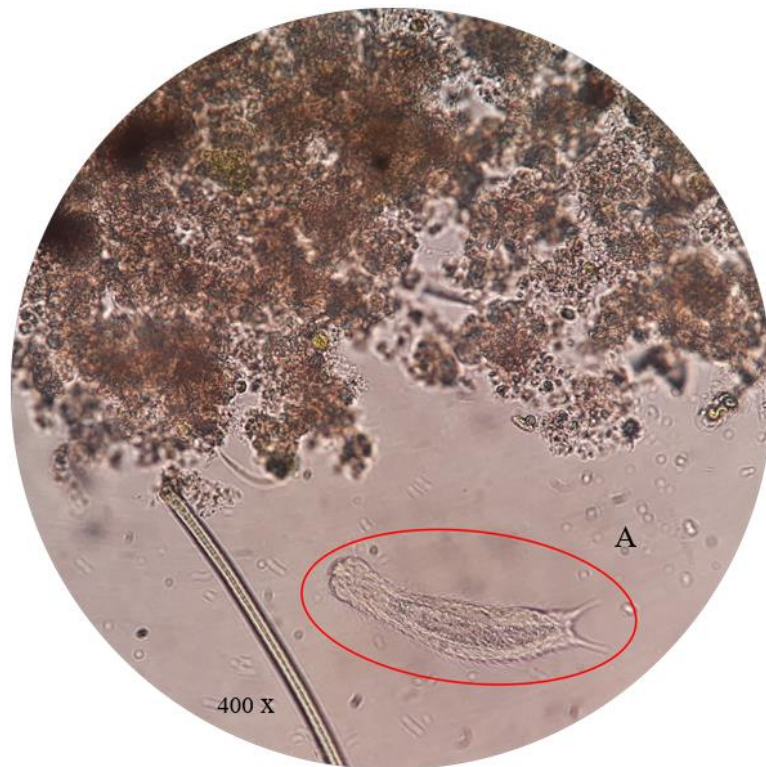
Figura 28 - Presença de Nematoides



A) e B) Semelhantes a *Monhystera* sp.

Fonte: Autora (2020)

Figura 29 - Semelhante a *Gastrotricha*



A) Semelhante a *Chaetonotus* sp.

Fonte: Autora (2020)

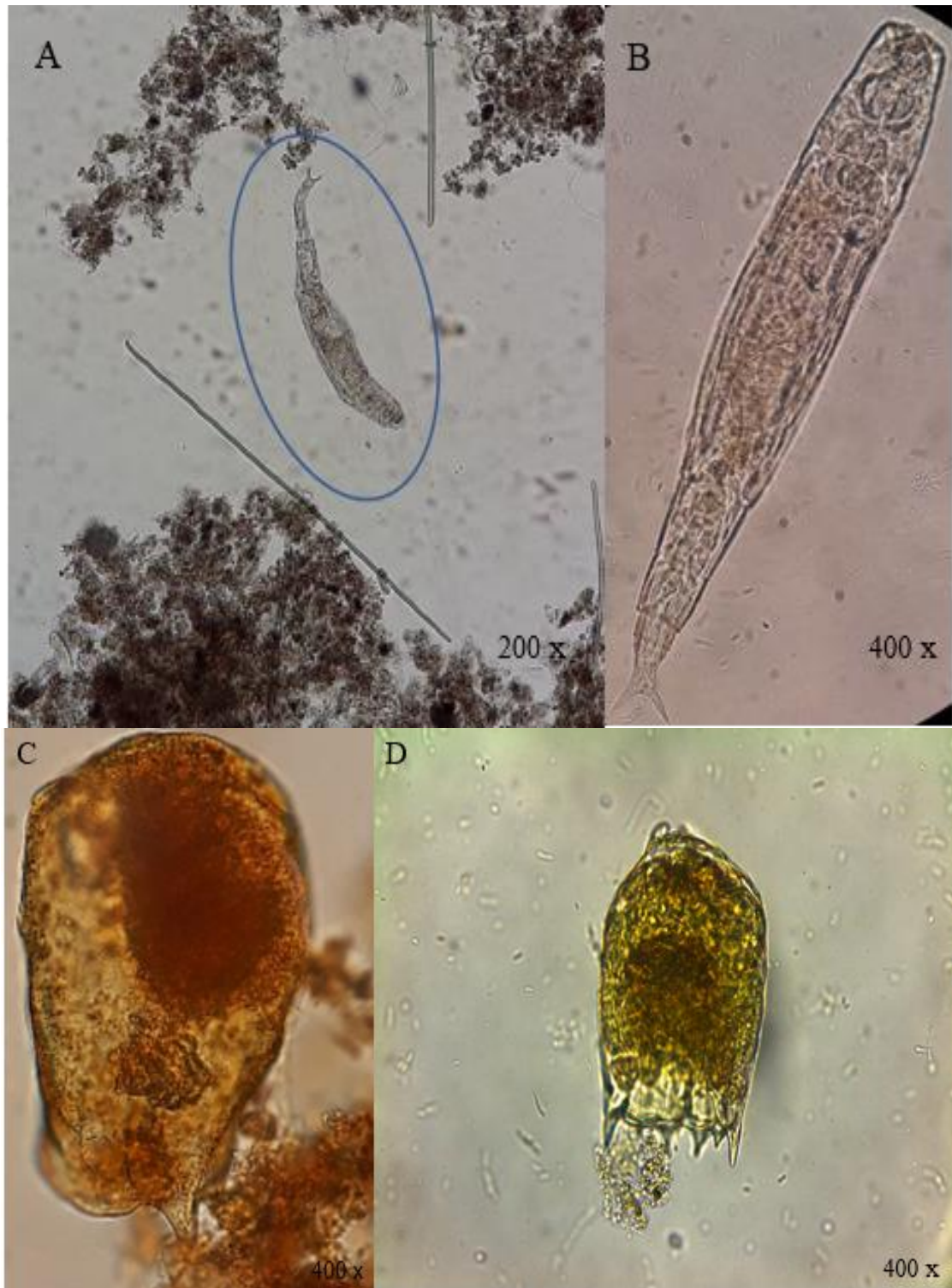
Figura 30 - Presença de Rotífero Semelhante a *Encentrum*



A) Semelhante a *Encentrum* sp.

Fonte: Autora (2020)

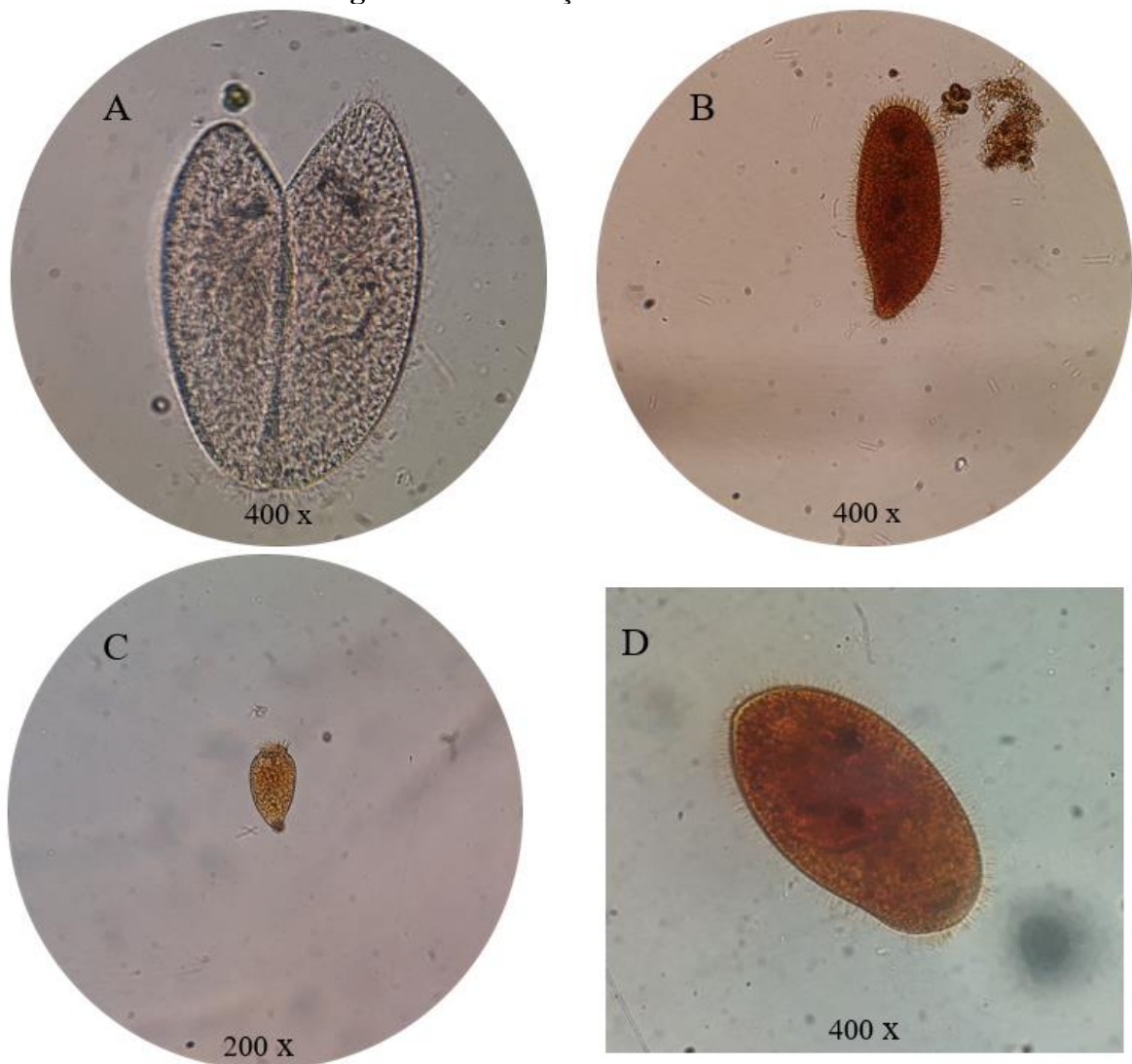
Figura 31 - Presença de Rotíferos



A) e B) Semelhantes a *Proales* sp., C) e D) Semelhantes a *Brachionus* sp.

Fonte: Autora (2020)

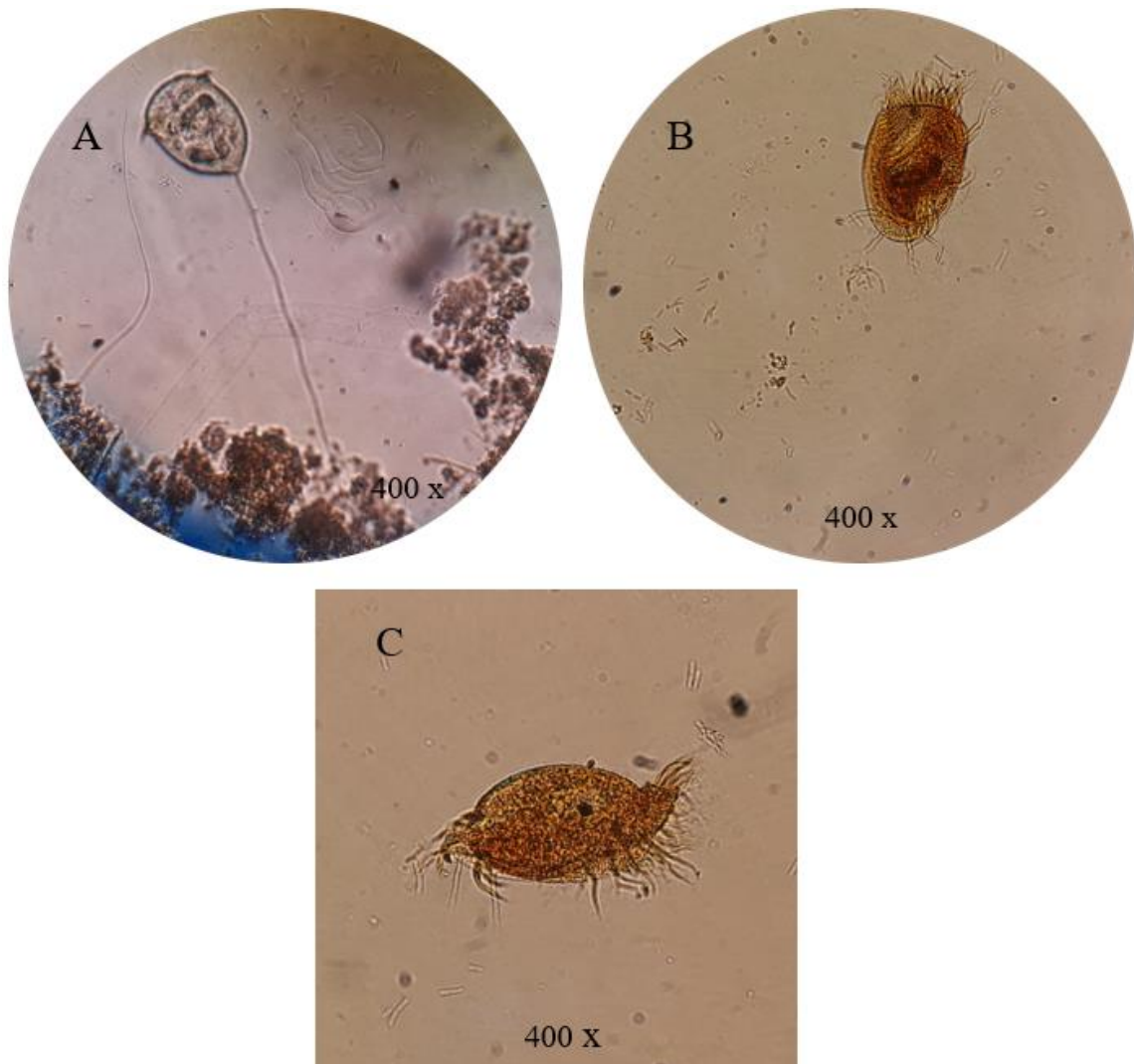
Figura 32 - Presença de ciliados livres.



A) Semelhante a *Paramecium* sp., B) Semelhante a *Frontonia* sp., C) Semelhante a *Strombilidium* sp. e D) Semelhante a *Nassula* sp.

Fonte: Autora (2020)

Figura 33 - Presença de ciliados fixo e predadores de flocos.



A) Semelhante a *Vorticella* sp., B) Semelhante a *Aspidisca* sp e C) Semelhante a *Euplotes* sp.

Fonte: Autora (2020)

Entre os micro-organismos encontrados, não houve uma diversidade equilibrada, com predominância de grupo de ciliados e flagelado sobre os demais. Foram encontrados, entre os protozoários ciliados livre-nadantes, ciliados pedunculados, ciliados predadores de flocos e flagelados. Entre os metazoários, verificou-se a presença de rotíferos e nematoides. Isso indica que o sistema está adaptado às condições ambientais e operacionais da ETE da UFS.

A predominância de flagelados indica deficiência de aeração e má depuração do efluente, o que está de acordo com as concentrações de OD no processo e a eficiência de tratamento do sistema. Já a predominância de ciliados pedunculados e livres, em algumas coletas, indicam boas condições de operação.

A presença *Aspidisca* e *Euplotes*, em algumas coletas, indica que pode estar ocorrendo

nitrificação no sistema de tratamento, o que condiz com os gêneros de bactérias identificados como responsáveis por realizar a etapa de nitrificação e desnitrificação no sistema a exemplo dos *Bacillus*, *Aeromonas* e *Pseudoxanthomonas* (VAZOLLÉR *et al.*, 1989).

Já a presença de *Vorticella* sp. indica um sistema com baixa carga orgânica e alta idade de lodo (SEVIOUR; NIELSEN, 2010).

No geral, a baixa frequência e diversidade dos micro-organismos identificados ao longo da pesquisa, fornece informações sobre a qualidade do efluente e da estação tratamento, uma vez que tanto os protozoários quanto os metazoários são responsáveis por auxiliar na remoção da matéria orgânica e realizar o polimento do efluente tratado, removendo partículas suspensas e bactérias livres ou mortas.

De acordo com Madoni (1994), um número de espécies de protozoários e metazoários reduzido é um indicativo de menor eficiência do tratamento com comparação com outros que apresentem uma maior diversidade.

5.3 Correlação da quantidade de bactérias com os parâmetros físico-químicos

Os resultados do teste de correlação de Spearman entre os dados referentes à quantificação das bactérias heterótrofas e os parâmetros físico-químicos encontrados no valo de oxidação estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 17 - Correlação entre a quantidade de bactérias heterótrofas e os parâmetros físico-químicos no valo de oxidação

Parâmetro	Bactérias heterótrofas
Temperatura	-0,33
pH	-0,08
OD	0,57
DQO	-0,62
ST	0,57
SS	0,61
SD	0,21
SSed	0,52

Fonte: Autora (2020)

A quantidade de bactérias no licor misto não apresentou correlações fortemente positivas ou negativas com nenhum dos parâmetros analisados, entretanto foi encontrada uma correlação moderada positiva com o OD, ST, SS e SSed, que significa que quanto maiores forem as concentrações de oxigênio e sólidos no meio haverá aumento da quantidade de bactérias no meio, o que corrobora com as informações encontradas na literatura a respeito dos fatores que influenciam na presença de bactérias no sistema de tratamento. Também foi identificada uma correlação moderada negativa com a DQO, indicando que um aumento da DQO implica na redução da quantidade de bactérias no reator.

6 CONCLUSÕES

No presente trabalho, foi possível avaliar a microbiota presente no licor misto do sistema de tratamento de esgoto da Universidade Federal de Sergipe. Os resultados descritos nesse estudo mostraram o potencial do uso da análise microbiológica combinado à análise físico-química, para entender o que está acontecendo no sistema de tratamento.

No licor misto, a quantidade bactérias encontradas ao longo do período de análise não foi elevada, apresentando média de $1,06 \times 10^7$ UFC/mL. Este valor está associado com as condições operacionais da ETE da UFS. Este fato fica evidenciado pela média da relação A/M (0,34 kgDQO/kgSSV.d) que indica uma situação de baixa carga orgânica e concentração de OD, no sistema antes do funcionamento dos aeradores, bem abaixo do recomendado.

As bactérias heterótrofas isoladas foram identificadas por MALDI – TOF, no entanto alguns isolados não foram identificados e outros apenas no nível de gênero o que pode ser explicado pela divergência de origem, uma vez que as amostras analisadas são de origem ambiental e a biblioteca do MALDI Biotyper é alimentado principalmente com bactérias de origem clínica.

No total, foram identificados 13 gêneros distintos de micro-organismos: *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Chryseobacterium*, *Hydrogenophaga*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudarthrobacter*, *Klebsiella*, *Pseudoxanthomonas* e *Exiguobacterium* (Quadro 17), com predominância de *Acinetobacter* (22,2%), *Bacillus* (18,5%) e *Enterococcus* (14,8%).

Com base nas informações sobre as características de cada um dos gêneros isolados, foi observado que 63% das bactérias identificadas são facultativas e apenas 37% são aeróbias estritas, o que está de acordo com as baixas concentrações de OD monitoradas no tanque de aeração. Também foi possível avaliar que a maior parte desses micro-organismos apresentam potencial de remover nutrientes e matéria orgânica. Desta forma, é possível inferir que, no sistema, além da remoção de matéria orgânica, está ocorrendo a degradação de nitrogênio. A presença de protozoários do gênero *Aspidisca* e *Euplotes* também confirmam a ocorrência de nitrificação no valo de oxidação.

Nos exames microscópicos foi evidenciado que o valo de oxidação não apresenta diversidade de protozoários e metazoários, entretanto quase sempre encontrada uma microfauna habitual (ciliados e flagelados), característica de sistemas de tratamento aeróbios. A pouca abundância de protozoários e metazoários afetam a qualidade do efluente final uma vez que os

mesmos são responsáveis por auxiliar na remoção da matéria orgânica e no polimento do efluente.

No total foram identificados 12 organismos diferentes, embora o grupo de ciliados livre-nadantes e fixos foram claramente predominantes no sistema em quase todas as coletas. Os gêneros de protozoários e metazoários identificados foram *Brachionus* sp., *Proales* sp., *Encentrum* sp., *Chateonotus* sp., *Monhystera* sp., *Vorticella* sp., *Paramecium* sp., *Frontonia* sp., *Strombilidium* sp., *Nassula* sp., *Aspidisca* sp. e *Euplotes* sp.

A elevada frequência de flagelados indica deficiência de aeração e má depuração do efluente, o que está de acordo com as concentrações de OD no processo e a eficiência de tratamento do sistema.

A ausência de metazoários do grupo de anelídeos e dos protozoários do grupo amebas e tecamebas podem indicar que o sistema não se encontra com boa qualidade de efluente, já que esses micro-organismos são característicos de sistemas bem estabilizados e com característica de boa aeração.

Com base nos resultados obtidos referente à remoção de DQO, verifica-se que a ETE está com eficiência de 30%, já com relação a remoção de sólidos totais na última etapa do tratamento a eficiência foi de 9%. Essas remoções estão muito abaixo da faixa de eficiência típica definida para um sistema combinado que está entre 85 e 95%, tanto para a DQO quanto para ST.

Após as análises laboratoriais dos parâmetros pH, temperatura, DBO e sólidos sedimentáveis, verifica-se que os resultados obtidos se encontram em conformidade com a resolução do CONAMA 430 em todo o período monitorado, visto que o efluente tratado apresentou valores condizentes com o padrão exigido na legislação. Apesar da baixa eficiência de remoção da ETE, esse fato pode ser explicado pela característica do afluente ser diluído, já que a DQO média na entrada da estação foi de 210 mg/L.

Com o resultado da análise de correlação entre os parâmetros microbiológicos e físico-químicos indicando haver correlação moderada positiva com o OD, ST, SS e SSed, é possível concluir as concentrações de oxigênio e sólidos no meio influenciam na quantidade de bactérias presentes no meio.

Com isso é possível concluir também que, aliado ao monitoramento físico-químico, a investigação microbiológica fornece informações a respeito do desempenho do processo de tratamento do esgoto, permitindo assim que rotinas operacionais sejam redefinidas e que as falhas de sejam corrigidas, aumentando como consequência a eficiência do tratamento da ETE.

REFERÊNCIAS

- ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 12.209**: Projetos hidráulicos – sanitários de estações de tratamento de esgoto sanitários. Rio de Janeiro: ABNT, 2011.
- AI, C.; YAN, Z.; ZHOU, H.; HOU, S.; CHAI, L.; QIU, G.; ZENG, W. Metagenomic insights into the effects of seasonal temperature variation on the activities of activated sludge. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 713, 2019.
- ALMEIDA, P. G. S. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB**. 2012. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídrico), Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- ALMEIDA, P. G. S.; MARCUS, A. K.; RITTMANN, B.E.; CHERNICHARO, C. A. L. Performance of plastic- and sponge-based trickling filters treating effluents from an UASB reactor. **Wat Sci Technol**, v. 67(5), p.1034–1042, 2013.
- ALVES, G. P. M.; FONINI, A.; GIRARDELLO, V.; THOMÉ, A. Caracterização do esgoto sanitário coletado na cidade de Passo Fundo-RS. **Teoria e Prática na Engenharia Civil**, n. 10, p. 25-29, 2007.
- AMMAN, R. L.; LUDWING, W.; SCHELEIFER, K. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiology Review**, v. 59, 1995, p. 143 – 169.
- ANTUNES, T. C.; BALLARINI, A. E.; SAND, S. V. D. Temporal variation of bacterial population and response to physical and chemical parameters along a petrochemical industry wastewater treatment plant. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.91, n.2, 2019.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation. 22 ed., Washington: APHA, 2012.
- ARAÚJO, F. J. F. **Tratamento de Águas Residuárias da Bacia de Sedimentação com Uso de um Sistema Combinado de Reatores Anaeróbio e Aeróbio em uma Fazenda de Carcinicultura no Município de Aracati - CE**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2013.
- ASENSI, E.; ZAMBRANO, D.; ALEMANY, E.; AGUADO, D. Effect of the addition of precipitated ferric chloride on the morphology and settling characteristics of activated sludge flocs. **Separation and Purification Technology**, v. 227, p. 115711, 2019.
- AWAD, M. F.; KRAUME, M. Fungal diversity in activated sludge from membrane bioreactors in Berlin. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 8, p. 693-698, 2011.

BALA-AMUTHA, K.; MURUGESAN, A. G. Biohydrogen production using corn stalk employing *Bacillus licheniformis* MSU AGM 2 strain. **Renewable Energy**, v. 50, p. 621-627, 2013.

BALSAMO, M.; D'HONDT, J.; KISIELEWSKI, J.; TODARO, M.; TONGIORGI, P.; GUIDI, L.; DE JONG, Y. Fauna Europaea: Gastrotricha. **Biodiversity Data Journal**, v. 3, n. e5800, 2015.

BANKS, C. J.; HEAVEN, S. Optimisation of biogas yields from anaerobic digestion by feedstock type. **The Biogas Handbook**, p.131–165, 2013.

BARROS JUNIOR., L. M. **Estudo da influência de compostos recalcitrantes na remoção de matéria orgânica biodegradável no tratamento de efluente de refinarias de petróleo**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

BASSIN, J. P.; DEZOTTI, M; ROSADO, A. Técnicas de biologia molecular aplicadas ao estudo da diversidade microbiana de sistemas de tratamento de efluentes. In: DEZOTTI, M., SANT'ANNA JUNIOR., G. L., BASSIN, J. P. (orgs.). **Processos Biológicos Avançados para Tratamento de Efluentes e Técnicas de Biologia Molecular para Estudo da Diversidade Microbiana**. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

BASSIN, J.P. **Remoção biológica de nutrientes em sistemas compactos e estudo da diversidade microbiana por técnicas de biologia molecular**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BENTO, A.P; SEZERINO, P. H.; PHILIPPI, L. S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F. R. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: um instrumento de avaliação e controle do processo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 329-338, 2005.

BISWAS, K.; TURNER, S. J. Microbial community composition and dynamics of moving bed biofilm reactor systems treating municipal sewage. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 855–864, 2012.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**. 4.ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2011.

BLOUNT, Z. D. The natural history of model organisms: The unexhausted potential of *E. coli*. **Elife**, v. 4, p. e05826, 2015.

BOUVET, P.J; GRIMONT, P. A. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 228-240, 1986.

BRASIL. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições

e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília, 2005

BRASIL. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília, 2011.

BUSSE, H.J.; WIESER, M. *Pseudarthrobacter*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, 2016.

CAICEDO, C.; ROSENWINKEL, K.-H.; NOGUEIRA, R. Temperature-driven growth of *Legionella* in lab-scale activated sludge systems and interaction with protozoa. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 221, n. 2, p. 315-322, 2018.

CALIJURI, M. do C.; CUNHA, D. G. **Engenharia Ambiental: conceitos, tecnologia e gestão**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013, 789 p.

CAMERON, A.; BARBIERI, R.; READ, R.; CHURCH, D.; ADATOR, E. H.; ZAHEER, R.; MCALLISTER, T. A. Functional screening for triclosan resistance in a wastewater metagenome and isolates of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from a large Canadian healthcare region. **PloS One**, v. 14, n. 1, 2019.

CAMPOS, J. R. **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbico e disposição controlada no solo**. PROSAB. Rio de Janeiro: ABES, 1999. 443 p.

CAO, J.; ZHANG, T.; WU, Y.; SUN, Y.; ZHANG, Y.; HUANG, B.; FU, B.; ZHANG, Q; LUO, J. Correlations of nitrogen removal and core functional genera in full-scale wastewater treatment plants: Influences of different treatment processes and influent characteristics. **Bioresource Technology**, v. 297, p. 122455, 2020.

CARR, E. L.; KÄMPFER, P.; PATEL, B. K.; GÜRTLER, V.; SEVIOUR, R. J. Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 953-963, 2003.

CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de efluentes industriais**. 3. ed. São Paulo: Engenho, 2016.

CERVANTES, F. J.; PAVLOSTATHIS, S.G.; VAN HAANDEL, A.C. **Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters: Principles and Applications**. London: IWA Publishing, 2006.

CETESB – COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011. 326 p.

CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, W.; ZADERNOWSKA, A.; GARCÍA-SOLACHE, M. Ready-to-eat dairy products as a source of multidrug-resistant *Enterococcus* strains: Phenotypic and genotypic characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4068-4077, 2020.

CHEN, C.Y.; WANG, G.H.; TSENG, I.H.; CHUNG, Y.C. Analysis of bacterial diversity and

efficiency of continuous removal of Victoria Blue R from wastewater by using packed-bed bioreactor. **Chemosphere** 145, 17–24, 2016.

CHEN, S.; HE, Q. Distinctive non-methanogen archaeal populations in anaerobic digestion. **Applied and Environmental Microbiology**, v.100, p. 419-430, 2015.

CHENG, H. W. A.; LUCY, F. E.; BROADERS, M. A.; MASTITSKY, S. E.; CHEN, C. H.; MURRAY, A. Municipal wastewater treatment plants as pathogen removal systems and as a contamination source of noroviruses and *Enterococcus faecalis*. **Journal of Water and Health**, v. 10, n. 3, p. 380-389, 2012.

CHERNICHARO, C. A. L. (coord.). **Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios: coletânea de trabalhos técnicos**. Belo Horizonte: FINEP/PROSAB, 2001.

CHERNICHARO, C. A. L. **Anaerobic Reactors**. London: IWA Publishing, v.4, 2007, 190p.

CHOI, G. M.; LEE, S. Y.; KIM, S. Y.; WEE, J. H.; IM, W. T. *Hydrogenophaga borbori* sp. nov., isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 555-561, 2020.

CHONG, S.; SEN, T. K.; KAYAALP, A.; ANG, H. M. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - a State of the art review. **Water Research**, v. 46, n. 11, p. 3434–3470, 2012.

COLLINS, M. D. *Exiguobacterium*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-6, 2015.

CORDI, L.; ASSALIN, M. R.; ALMEIDA, E.; DE MORAES, S.; DURÁN, N. Impacto na microbiota do lodo ativado durante a aclimação com diferentes efluentes industriais. **Engenharia Ambiental**, v. 7, p. 03 -11, 2010.

CORDI, L.; ASSALIN, M. R.; DIEZ, M. C.; DURAN, N. Montagem, partida e operação de um sistema de lodos ativados para o tratamento de efluentes: parâmetros físico-químicos e biológicos. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v. 5, n. 1, p. 97-115, 2008.

CORDI, L.; ASSALIN, M.R.; PONEZI, A.N.; DURÁN, N. Identification of Microbiota for Activated Sludge Acclimated By Paper Mill Effluent Kraft E1 Bioremediation. **Journal of Bioremediation & Biodegradation**, n.3, p. 169-172, 2012.

COSTA NETO, A. **Avaliação de processo de lodos ativados por batelada seguido de tratamento terciário com ênfase na remoção de matéria orgânica e na sedimentabilidade do lodo**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária), Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2016.

COSTA, A. G.; FERREIRA, A. F.; VAN HAANDEL, A. Monitoramento da atividade bacteriana de um sistema de lodos ativados Bardenpho por meio da respirometria. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 1, p. 17-23, 2007.

COSTA, B. Z. D. **Processos biocatalíticos aplicando epóxido hidrolases, óxido redutases e transaminases**. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

CUELLAR-BERMUDEZ, S. P.; ALEMAN-NAVA, G. S.; CHANDRA, R.; GARCIA-PEREZ, J. S.; CONTRERAS-ANGULO, J. R.; MARKOU, G.; PARRA-SALDIVAR, R. Nutrients utilization and contaminants removal. A review of two approaches of algae and cyanobacteria in wastewater. **Algal Research**, v. 24, p. 438-449, 2017.

DALTRO FILHO, J. **Saneamento ambiental: doença, saúde e o saneamento da água**. São Cristóvão: UFS, 2004. 332 p.

DANG, H. T.; DINH, C. V.; NGUYEN, K. M.; TRAN, N. T.; PHAM, T. T.; NARBAITZ, R. M. Loofah Sponges as Bio-Carriers in a Pilot-Scale Integrated Fixed-Film Activated Sludge System for Municipal Wastewater Treatment. **Sustainability**, v. 12, n. 11, p. 4758, 2020.

DAVIN-REGLI, A.; MASI, M.; BIALEK, S.; NICOLAS-CHANOINE, M. H.; PAGÈS, J. M. Antimicrobial drug efflux pumps in *Enterobacter* and *Klebsiella*. In: **Efflux-mediated antimicrobial resistance in Bacteria**. Adis, Cham, 2016. p. 281-306.

DEMIREL, B.; SCHERER, P.; YENIGUN, O.; ONAY, T. T. Production of methane and hydrogen from biomass through conventional and high-rate anaerobic digestion processes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 116-146, 2010.

DENG, Y.L.; RUAN, Y.J.; ZHU, S.M.; GUO, X.S.; HAN, Z.Y.; YE, Z.Y.; LIU, G.; SHI, M. M. The impact of DO and salinity on microbial community in poly (butylene succinate) denitrification reactors for recirculating aquaculture system wastewater treatment. **AMB express**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

DEZOTTI, M. (coord.). **Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos**. Rio de Janeiro: E-papers, 2008, 360p.

DING, A.; LIANG, H.; LI, G.; DERLON, N.; SZIVAK, I.; MORGENROTH, E.; PRONK, W. Impact of aeration shear stress on permeate flux and fouling layer properties in a low pressure membrane bioreactor for the treatment of grey water. **Journal of Membrane Science**, v. 510, p. 382–390, 2016.

DING, G.; LI, X.; LIN, W.; KIMOCHI, Y.; SUDO, R. Enhanced flocculation of two bioflocculationproducing bacteria by secretion of *Philodina erythrophthalma*. **Water Research**, v.112, p. 208–216, 2017.

DRINAN, J. E.; SPELLMAN, F. **Water and Wastewater Treatment. A Guide for the Nonengineering Professional**. 2. ed., CRC Press: Florida, 2015.

DRZEWICKI, A.; KULIKOWSKA, D. Limitation of sludge biotic index application for control of a wastewater treatment plant working with shock organic and ammonium loadings. **European Journal Protistology**, v. 47, p. 287–294, 2011.

DU, R.; PENG, Y.; JI, J.; SHI, L.; GAO, R.; LI, X. Partial denitrification providing nitrite: Opportunities of extending application for anammox. **Environment international**, v. 131, p. 105001, 2019.

EIKELBOOM, D. H. **Process control of activated sludge plants by microscopic investigation**. 1. ed. London: IWA publishing, 2000.

ELISSEN, H. J.; PEETERS, E. T.; BUYS, B. R.; KLAPWIJK, A.; RULKENS, W. Population dynamics of freeswimming Annelida in four Dutch wastewater treatment plants in relation to process characteristics. **Hydrobiologia**, v. 605(1), p. 131–142, 2008.

EVANS, T. N.; SEVIOUR, R. J. Estimating biodiversity of fungi in activated sludge communities using culture-independent methods. **Microbial ecology**, v. 63, n. 4, p. 773–786, 2012.

FAN, H.; LIU, X.; WANG, H.; HAN, Y.; QI, L.; WANG, H. Oxygen Transfer dynamics and activated sludge floc structure under different sludge retention times at low dissolved oxygen concentrations. **Chemosphere**, v. 169, p. 586 – 595, 2017.

FERNANDES, M. D. S. **Avaliação de riscos e de pontos críticos de contaminação por *Enterococcus* spp. e *Bacillus cereus* no processamento de ricota**. 2010. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

FERREIRA, V.; MARTINS, C.; PEREIRA, M. O.; NICOLAU, A. Use of an aerobic selector to overcome filamentous bulking in an activated sludge wastewater treatment plant. **Environmental Technology**, v. 35, n.12, p. 1525–1531, 2014.

FERRERA, I.; SANCHEZ, O. Insights into microbial diversity in wastewater treatment systems: How far have we come? **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p.790–802, 2016.

FERRO, T. N. **Remoção de matéria carbonácea, nitrogenada e fosfatada em um sistema anaeróbio-aeróbio-anóxico (AOA) submetido a variações de cargas orgânicas e hidráulicas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

FRANCISCO, R.; ALPOIM, M. C.; MORAIS, P. V. Diversity of chromium-resistant and reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 837–843, 2002.

FREDRIKSSON, N.J.; HERMANSSON, M.; WILÉN, B.M. Diversity and dynamics of Archaea in an activated sludge wastewater treatment plant. **BMC Microbiol**, v.12, p. 140, 2012.

FU, J.; LIN, Z.; ZHAO, P.; WANG, Y.; HE, L.; ZHOU, J. Establishment and efficiency analysis of a single-stage denitrifying phosphorus removal system treating secondary effluent. **Bioresource Technology**, 288, 121520, 2019.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE - FUNASA. **Manual de saneamento**. 3. ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 2004.

GALLEGO, L. *Acinetobacter baumannii*: factors involved in its high adaptability to adverse environmental conditions. **J Microbiol Exp**, v. 3, n. 2, p. 00085, 2016.

GALLERT, C; FUND, K.; WINTER, J. Antibiotic resistance of bacteria in raw and biologically treatment sewage and in groundwater below leaking sewers. **Journal of Applied Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 106-112, 2005.

GAN, Y.; ZHAO, Q.; YE, Z. Denitrification performance and microbial diversity of immobilized bacterial consortium treating nitrate micro-polluted water. **Bioresource technology**, v. 281, p. 351-358, 2019.

GARRAFFONI, A. R. S.; ARAÚJO, T. Q.; LOURENÇO, A. P.; GUIDI, L.; BALSAMO, M. A new genus and new species of freshwater Chaetonotidae (Gastrotricha: Chaetonotida) from Brazil with phylogenetic position inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. **Systematics and Biodiversity**, v. 15, n. 1, p. 49–62, 2016.

GERARDI, M. H. **Settleability problems and loss of solids in the activated sludge process**. New York: Wiley-Interscience, 2002.

GERARDI, M. H. **Wastewater bacteria**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006.

GIANNAKIS, S.; VOUMARD, M.; GRANDJEAN, D.; MAGNET, A.; DE ALENCASTRO, L. F.; PULGARIN, C. Micropollutant degradation, bacterial inactivation and regrowth risk in wastewater effluents: Influence of the secondary (pre)treatment on the efficiency of Advanced Oxidation Processes. **Water Research**, v. 102, p. 505–515, 2016.

GÓMEZ-ACATA, S.; ESQUIVEL-RÍOS, L.; PÉREZ-SANDOVAL, M. V.; NAVARRO-NOYA, Y.; ROJAS-VALDEZ, A.; THALASSO, F.; DENDOOVEN, L. Bacterial community structure within an activated sludge reactor added with phenolic compounds. **Applied microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 8, p. 3405 - 3414, 2017.

GONZÁLEZ, E. C.; SALAS, L. M.; GUTIÉRREZ, A. C. A practical procedure for the microbiological monitoring of activated sludge plant functioning. **Water and Environment Journal**, v. 30, n. 3-4, p. 182-189, 2016.

GOULART, J. A. G. **Estudo da remoção de cistos de Giardia spp. e oocistos Cryptosporidium spp. e caracterização da microfauna em estações de tratamento de esgoto: instrumentos de avaliação e controle do processo**. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

GRADIM, A. J.; ANJOS, M. **Guia de Microbiologia**. 1. Ed. 2015. Disponível em: <http://abihpec.org.br/guia-microbiologia/files/assets/basic-html/page3.html>. Acesso em: 15 de abril de 2019.

GRADY JUNIOR., C. L.; DAIGGER, G. T.; LOVE, N. G.; FILIPE, C. D. **Biological Wastewater Treatment**. 3. Ed. IWA Publishing: London, UK, 2011.

GU, T.; RASTEGAR, S. O.; MOUSAVI, S. M.; LIA, M.; ZHOU, M. Advances in bioleaching for recovery of metals and bioremediation of fuel ash and sewage sludge. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 428 – 440, 2018.

GUO, J.H.; PENG, Y.Z.; PENG, C.Y.; WANG, S.Y.; CHEN, Y.; HUANG, H.J.; SUN, Z.R. Energy saving achieved by limited filamentous bulking sludge under low dissolved oxygen. **Bioresource Technology**, v.101, p.1120-1126, 2010.

HAMAIDI-CHERGUI, F.; ZOUBIRI, A. F.; DEBIB, A.; HAMAIDI, M. S.; KAIS, H. Occurrence and removal of pathogens and a preliminary study of microfauna in the Medea sewage treatment plant. **Larhyss Journal**, n. 26, p. 183-208, 2016.

HATAMOTO, M.; KANEKO, T.; TAKIMOTO, Y.; ITO, T.; MIYAZATO, N.; MAKI, S.; YAMAGUCHI, T.; AOI, T. Microbial Community Structure and Enumeration of *Bacillus* species in Activated Sludge. **Journal of Water and Environment Technology**, v. 15, n. 6, p. 233–240, 2017.

HENZE, M., VAN LOOSVRECHT, M. C. M., EKAMA, G. A., BRDJANOVIC, D. **Biological wastewater treatment: Principles, modelling and design**. London, UK: IWA Publishing. 2008.

HU, B.; QI, R.; AN, W.; XU, M.; ZHANG, Y.; BAI, X.; YANG, M. Dynamics of the microfauna community in a full-scale municipal wastewater treatment plant experiencing sludge bulking. **European Journal of Protistology**, v. 49, p. 491–499, 2013.

HU, Q.; ZHANG, X. X.; JIA, S.; HUANG, K.; TANG, J.; SHI, P.; YE, L.; REN, H. Metagenomic insights into ultraviolet disinfection effects on antibiotic resistome in biologically treated wastewater. **Water research**, v. 101, p. 309-317, 2016.

ISSA, H. M. Optimization of Wastewater Treatment Plant Design using Process Dynamic Simulation: A Case Study from Kurdistan, Iraq. **ARO-The Scientific Journal of Koya University**, v. 7, n. 1, p. 59-66, 2019.

ISSA, H.M., Scale-up criterion of power consumption for a surface aerator used in wastewater treatment tank. **International Journal of Energy and Environment**, v. 7, n. 5, p. 427-434, 2016.

IVANOV, V. **Environmental microbiology for engineers**. New York: CRC press, 2015.

IYO, T.; AOKI, S.; KOIDE, T.; OHTA, H.; IWAHORI, K. Kinetic and molecular biological analysis of activated sludge process using *Bacillus* sp. and minerals. **J. Water Waste**, v. 52, n. 12, p. 971–981, 2010.

JENKINS, D; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. **Manual on the causes and control of activated sludge, bulking, foaming and other solids separation problems**. 3. ed. CRC Press, 2003, 190 p.

Ji, B.; CHEN, W.; ZHU, L.; YANG, K. Isolation of aluminum-tolerant bacteria capable of nitrogen removal in activated sludge. **Marine Pollution Bulletin**, v. 106, n. 1-2, p. 31-34, 2016.

Ji, B.; YANG, K.; ZHU, L.; JIANG, Y.; WANG, H.; ZHOU, J.; ZHANG, H. Aerobic denitrification: a review of important advances of the last 30 years. **Biotechnology and bioprocess engineering**, v. 20, n. 4, p. 643-651, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 7.ed. Rio de Janeiro: ABES, 2014. 940 p.

JU, F.; GUO, F.; YE, L.; XIA, Y.; ZHANG, T. Metagenomic analysis on seasonal microbial variations of activated sludge from a full-scale wastewater treatment plant over 4 years. **Environmental Microbiology Reports**, v. 6, n. 1, p. 80–89, 2013.

KÄMPFER, P.; DREYER, U.; NEEF, A.; DOTT, W.; BUSSE, H. J. *Chryseobacterium defluvii* sp. nov., isolated from wastewater. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 93-97, 2003.

KÄMPFER, P.; SCHULZE, R.; JÄCKEL, U.; MALIK, K. A.; AMANN, R.; SPRING, S. *HYDROGENOPHAGA defluvii* sp. nov. and *Hydrogenophaga atypica* sp. nov., isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 341-344, 2005.

KANG, A. J.; BROWN, A. K.; WONG, C. S.; HUANG, Z.; YUAN, Q. Variation in bacterial community structure of aerobic granular and suspended activated sludge in the presence of the antibiotic sulfamethoxazole. **Bioresource Technology**, 261, 322–328, 2018.

KENNEDY, A. C. Bacterial diversity in agroecosystems. **Agriculture, Ecosystems and Environment**. v.74, p.65-75, 1999.

KHAN, A. A.; GAUR, R. Z.; MEHROTRA, I.; DIAMANTIS, V.; LEW, B.; KAZMI, A. A Performance assessment of different STPs based on UASB followed by aerobic post treatment systems. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 12, n. 1, p. 43, 2014.

KIM, H.; PAGILA, K.R. Competitive Growth of *Gordonia* and *Acinetobacter* in Continuous Flow Aerobic and Anaerobic/Aerobic Reactors. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 95, n. 6, p. 577-582, 2003

KITTI, T.; SENG, R.; THUMMEEPK, R.; BOONLAO, C.; JINDAYOK, T.; SITTHISAK, S. Biofilm formation of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples in Northern Thailand. **Journal of global infectious diseases**, v. 11, n. 3, p. 112, 2019.

KLEIN, T.; ZIHLMANN, D.; DERLON, N.; ISAACSON, C.; SZIVAK, I.; WEISSBRODT, D. G.; PRONK, W. Biological control of biofilms on membranes by metazoans. **Water Research**, v. 88, p. 20–29, 2016.

KOPCAKOVA, A.; STRAMOVA, Z.; KVASNOVA, S.; GODANY, A.; PERHACOVA, Z.; PRISTAS, P. Need for database extension for reliable identification of bacteria from extreme environments using MALDI-TOF mass spectrometry. **Chem Pap**, v. 68, n. 11, p. 1435-1442, 2014.

KOROTKOVA, T. G.; ALTUKHOVA, D. V.; ISTOSHINA, N. Y.; DEMIN, V. I. Technology of Wastewater Treatment Production of Vegetable Oils and Fats and Evaluation of Aeration Tank Efficiency on the Basis of Microanalysis of Activated Sludge. **Journal of Ecological Engineering**, v. 20, n. 7, p. 70--78, 2019.

KOUBEK, J.; UHLIK, O.; JECNA, K.; JUNKOVA, P.; VRKOSLAVOVA, J.; LIPOV, J.; MACKOVA, M. Whole-cell MALDI-TOF: rapid screening method in environmental microbiology. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 69, p. 82-86, 2012.

KOUKI, S.; SAIDI, N.; M'HIRI, F.; NASR, H.; CHERIF, H.; OUZARI, H.; HASSEN, A. Isolation and characterization of facultative mixotrophic ammonia-oxidizing bacteria from constructed wetlands. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 10, p. 1699-1708, 2011.

KREUTZ, Cristiane. **Comportamento de reator anaeróbio-aeróbio no tratamento de efluente bovino**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2012.

KUMAR, P.; PATEL, S. K.; LEE, J. K.; KALIA, V. C. Extending the limits of *Bacillus* for novel biotechnological applications. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 8, p. 1543-1561, 2013.

KUNDU, A.; REDZWAN, G.; SAHU, J. N.; MUKHERJEE, S.; GUPTA, B. S.; HASHIM, M. A. Hexavalent chromium adsorption by a novel activated carbon prepared by microwave activation. **BioResources**, v. 9, n. 1, p. 1498-1518, 2014.

LANG, X.; LI, Q.; JI, M.; YAN, G.; GUO, S. Isolation and niche characteristics in simultaneous nitrification and denitrification application of an aerobic denitrifier, *Acinetobacter* sp. YS2. **Bioresource Technology**, p. 122799, 2020.

LAYER, M.; ADLER, A.; REYNAERT, E.; HERNANDEZ, A.; PAGNI, M.; MORGENROTH, E.; DERLON, N. Organic substrate diffusibility governs microbial community composition, nutrient removal performance and kinetics of granulation of aerobic granular sludge. **Water Research X**, v. 4, n. 100033, p. 1-16, 2019.

LECKIE, S. E. Methods of microbial community profiling and their application to forest soil. **Forest Ecology and Management**, v. 220, p. 88-106, 2005.

LEE, S. H.; CHUNG, C. W.; YU, Y. J.; RHEE, Y. H. Effect of alkaline protease-producing *Exiguobacterium* sp. YS1 inoculation on the solubilization and bacterial community of waste activated sludge. **Bioresource technology**, v. 100, n. 20, p. 4597-4603, 2009.

LEME, E. J. A. **Manual prático de tratamento de águas residuárias**. São Carlos: Ed. UFSCar, 2010.

LESSARD, P.; LE BIHAN, Y. Fixed film processes. In: MARA, D.; HORAN, N., **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**, Londres: Academic Press Limited, 2003, cap. 19.

LESTER, J. N.; BIRKETT, J. W. **Microbiology and chemistry for environmental scientists and engineers**. London: E&FN Spon, 1999.

LETTINGA, G. A. F. M.; VAN VELSEN, A. F. M.; HOBMA, S. D.; DE ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, p. 699-734, 1980.

LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, n. 1, p. 3-28, 1995.

LIANG, P.; HUANG, X.; QIAN, Y.; WEI, Y.; DING, G. Determination and comparison of sludge reduction rates caused by microfaunas predation. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 6, p. 854–861, 2006.

LIAO, X., LI, H., ZHANG, Y., LIU, C., CHEN, Q. Accelerated high-solids anaerobic digestion of sewage sludge using low-temperature thermal pretreatment. **Int. Biodeterior. Biodegrad.** v. 106, p. 141–149, 2016.

LIPSKI, A.; STACKEBRANDT, E.S. *Pseudoxanthomonas*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-3, 2015.

LIU, S.; YING, G. G.; LIU, Y. S.; PENG, F. Q.; HE, L. Y. Degradation of norgestrel by bacteria from activated sludge: comparison to progesterone. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 18, p. 10266-10276, 2013.

LOVECKA, P.; PACOVSKA, I.; STURSA, P.; VRCHOTOVA, B.; KOCHANKOVA, L.; DEMNEROVA, K. Organochlorinated pesticide degrading microorganisms isolated from contaminated soil. **New biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 26-31, 2015.

LOZADA, J. A.R.; SILVEIRA, K. C.; JUNIO DA SILVA, L.; ALTOÉ, M.B.; BORGES, L. E.B. Prospecting for sludge bacteria from a poultry slaughterhouse, with potential for degrading organic substances. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1209-1216, 2017.

LU, J.; ZHANG, Y.; WU, J.; WANG, J. Nitrogen removal in recirculating aquaculture water with high dissolved oxygen conditions using the simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification system. **Bioresource Technology**, v. 305, p. 123037, 2020.

LU, Z.; SUN, W.; LI, C.; AO, X.; YANG, C.; LI, S. Bioremoval of non-steroidal anti-inflammatory drugs by *Pseudoxanthomonas* sp. DIN-3 isolated from biological activated carbon process. **Water research**, v. 161, p. 459-472, 2019.

LUCZKIEWICZ, A.; FELIS, E.; ZIEMBINSKA, A.; GNIDA, A.; KOTLARSKA, E.; OLANCZUK-NEYMAN, K.; SURMACZ-GORSKA, J. Resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. to selected antimicrobial agents present in municipal wastewater. **Journal of Water and Health**, v. 11, n. 4, p. 600–612, 2013.

LUIZ, A. L. **Investigação do potencial antimicrobiano de plantas do cerrado no controle de micro-organismos simbiótico de insetos praga**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

MACHADO, F. S. **Avaliação do pré-tratamento do efluente de indústria química com adição de linhagens microbianas especializadas na degradação de compostos tóxicos**. 2009. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de**

Brock, 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016, 1032p.

MADONI, P. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plant based on the microfauna analysis. **Water Research**, v. 28, p. 67–75, 1994.

MADONI, P. Protozoa in wastewater treatment processes: a minireview. **Italian Journal of Zoology**, v.78, p. 3–11, 2011.

MARA, D.; HORAN, N.J. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**. Elsevier: UK., 2003.

MATSUNAGA, K.; KUBOTA, K.; HARADA, H. Molecular diversity of eukaryotes in municipal wastewater treatment processes as revealed by 18S rRNA gene analysis. **Microbes and environments**, v. 29, n. 9, p. 401 – 4007, 2014.

MCKINNEY, R. E. **Environmental Pollution Control Microbiology**. New York: Marcel Dekker, 2004.

MENDONÇA, L. C. **Microbiologia e cinética de sistema de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido**. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

MENDONÇA, S. R. **Tópicos avançados em sistemas de esgotos sanitários**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1987.

MENDONÇA, S. R.; MENDONÇA, L. C. **Sistemas sustentáveis de esgotos: orientações técnicas para projeto e dimensionamento de redes coletoras, emissários, canais, estações elevatórias, tratamento e reuso na agricultura**. São Paulo: Blucher, 2016.

MENEZES, A.C.; OLIVEIRA, M.F.; MENDONÇA, L.C. Análise técnica entre vazão de projeto e vazão de operação da estação de tratamento de esgoto da Universidade Federal de Sergipe. In: XIV SRHNE - Simpósio de Recursos Hídricos do Nordeste, Maceió/ AL, ABRH, 2018, 9 p.

MENG, D.; LIU, Y. L.; LI, R. R.; GU, P. F.; FAN, X. Y.; HUANG, Z. S.; DU, Z.J.; LI, Q. *Chryseobacterium binzhouense* sp. nov., isolated from activated sludge. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 618-623, 2020.

MENG, X.; NIU, G.; YANG, W.; CAO, X. Di (2-ethylhexyl) phthalate biodegradation and denitrification by a *Pseudoxanthomonas* sp. strain. **Bioresource Technology**, v. 180, p. 356-359, 2015.

MESQUITA, D. P.; AMARAL, A. L.; FERREIRA, E. C. Activated sludge characterization through microscopy: A review on quantitative image analysis and chemometric techniques. **Analytica chimica acta**, v. 802, p. 14-28, 2013.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 5. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2014.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2003.

MOTA, A.M.C. **Avaliação de um Sistema Híbrido Integrado de Lodo Ativado e Biofilme em Leito Móvel, para Tratamento de Esgotos Domésticos, Utilizando PVA-Gel como Meio Suporte**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

MURRAY, P.R, BARON, E.J, JORGENSEN, J.H, PFALLER, M.A, YOLKEN, R.H. **Manual of Clinical Microbiology**. 9. ed. Washington: ASM Press; 2007.

MUSZYŃSKI, A.; ŁEBKOWSKA, M.; TABERNACKA, A.; MIŁOBĘDZKA, A. From macro to lab-scale: Changes in bacterial community led to deterioration of EBPR in lab reactor. **Central European Journal of Biology**, v. 8, n. 2, p. 130–142, 2013.

NACHTIGALL, G.; JESUS, A.G.; ANGELIS, D.; SANTESTEVAN, N.A.; MINOTTO, E.; MOURA, T.M.; D’AZEVEDO, P.; SAND, S.T.V.D.; FRAZZON, J.; FRAZZON, A.P.G. Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio Dilúvio. Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, 2013

NARIHIRO, T.; SEKIGUCHI, Y. Oligonucleotide primers, probes and molecular methods for the environmental monitoring of methanogenic archaea. **Microbial Biotechnology**, v.4, p. 585–602, 2011.

NAVARRO, R. R.; HORI, T.; SATO, Y.; TANAKA, R.; OGATA, A.; HABE, H. High susceptibility of aerobic microbiota in membrane bioreactor (MBR) sludge towards olive oil as revealed by 204 high-throughput sequencing of 16S rRNA genes. **Journal of Environmental Chemical. Engineering**, v. 4, p. 4392–4399, 2016.

NEDWELL, D. B. Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. **FEMS microbiology ecology**, v. 30, n. 2, p. 101-111, 1999.

NELSON, D. R.; GUIDETTI, R.; REBECCHI, L. Thorp and Covich’s freshwater invertebrates. In: THORP, J.; ROGERS, D. C. **Ecology and general biology**. 4. ed., vol 1. London: Academic NIAZI Press, p. 347–380, 2015.

NIAZI, S.; HASSANVAND, M. S.; MAHVI, A. H.; NABIZADEH, R.; ALIMOHAMMADI, M.; NABAVI, S.; FARIDI, S.; DEHGHANI, A.; HOSEINI, M.; MORADI-JOO, M.; MOKAMEL, A.; KASHANI, H.; YARALI, N; YUNESIAN, M. Assessment of bioaerosol contamination (bacteria and fungi) in the largest urban wastewater treatment plant in the Middle East. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 20, p. 16014-16021, 2015.

NIELSEN, P. H.; MIELCZAREK, A. T.; KRAGELUND, C.; NIELSEN, J. L.; SAUNDERS, A. M.; KONG, Y.; VOLLERTSEN, J. A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants. **Water Research**, v. 44, n. 17, p. 5070 – 5088, 2010.

NIU, L.; LI, Y.; XU, L.; WANG, P.; ZHANG, W.; WANG, C.; CAI, W.; WANG, L. Ignored fungal community in activated sludge wastewater treatment plants: diversity and altitudinal characteristics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 4, p. 4185-4193, 2017.

NORDGARD, A. S. R.; BERGLAND, W. H.; BAKKE, R.; VADSTEIN, O.; ØSTGAARD, K.; BAKKE, I. Microbial community dynamics and biogas production from manure fractions in sludge bed anaerobic digestion. **Journal of Applied Microbiology**, v.119, p. 1573-1583, 2015.

NUNES, J. A. **Tratamento biológico de águas residuárias**. 3. ed., Aracaju: J. Andrade, 2012.

NUVOLARI, A. **Esgoto sanitário: coleta transporte, tratamento e reuso agrícola**. 2. ed., São Paulo: Blucher, 2011.

OLIVEIRA NETTO, A. P. O. **Reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo em escala piloto, com recirculação da fase líquida, aplicado ao tratamento de esgoto sanitário**. São Carlos, Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2011.

OLIVEIRA, A. C.D. G. **Bactérias heterotróficas e autotróficas envolvidas na remoção de nitrogênio de lixiviado de aterro sanitário em reator de leito móvel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D.F.; PICOLLI, R.H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 277–284, 2010.

OLIVEIRA, P.; COUFORT-SAUDEJAUD, C.; ALLIET, M.; FRANCES, C. Procédé de traitement des eaux usées par boues activées: lien entre les propriétés morphologiques des floes et l'âge de boue. **Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science**, v. 30, n. 1, p. 29-32, 2017.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO). **ANTIMICROBIAL RESISTANCE: Global Report on Surveillance**. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: Geneva, Switzerland. 2014.

ORTIZ, A. T.; CHÁVEZ, G. M.; GARZÓN-ZUÑIGA, M.; OROZCO, Y. H. The Testate lobose amoebae in the wastewater treatment. In: Mendes-Vilas, A. (org). **Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. Espanha: Formatex Research Center, p. 347–351, 2009.

PAJDAK-STÓS, A.; SOBCZYK, M.; FIAŁKOWSKA, E.; KOCERBA-SOROKA, W.; FYDA, J. The effect of three different predatory ciliate species on activated sludge microfauna. **European journal of protistology**, v. 58, p. 87-93, 2017.

PARADA-ALBARRACÍN, J.A.; PÉREZ, J.; GÓMEZ M.A. Bioindicator value of flagellates in urban wastewater treatment using membrane bioreactors. **Water Research**, v.122, p. 526–535, 2017.

PATIL, V. S.; SALUNKHE, R. C.; PATIL, R. H.; HUSSENER, C.; SHOUCHÉ, Y. S.; RAMANA, V. V. *Enterobacillus tribolii* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Enterobacteriaceae*, isolated from the gut of a red flour beetle, *Tribolium castaneum*. **Antonie Leeuwenhoek**, v.107, p. 1207-1216, 2015.

PENG, P.; HUANG, H.; REN, H. Effect of adding low-concentration of rhamnolipid on reactor performances and microbial community evolution in MBBRs for low C/N ratio and antibiotic wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 557-561, 2018.

PIOTROWSKA, M.; PRZYGODZIŃSKA, D.; MATYJEWICZ, K.; POPOWSKA, M. Occurrence and variety of β -lactamase genes among *Aeromonas* spp. isolated from urban wastewater treatment plant. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 863, 2017.

POLETO, L.; SOUZA, P.; MAGRINI, F. E.; BEAL, L. L.; TORRES, A. P. R.; SOUSA, M. P.; LAURINO, J.P.; PAESI, S. Selection and identification of microorganisms present in the treatment of wastewater and activated sludge to produce biohydrogen from glycerol. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 41, n. 7, p. 4374-4381, 2016.

PUIGAGUT, J.; SALVADÓ, H.; TARRATS, X.; GARCÍA, J. Effects of particulate and soluble substrates on microfauna populations and treatment efficiency in activated sludge systems. **Water Research**, v. 41, n. 14, p. 3168–3176, 2007.

PURNOMO, A. S.; PUTRA, S. R.; SHIMIZU, K.; KONDO, R. Biodegradation of heptachlor and heptachlor epoxide-contaminated soils by white-rot fungal inocula. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 19, p. 11305–11312, 2014.

RAJKUMARI, J.; DYAVAIAH, M.; SYED, A.; SIDDHARDHA, B. Model Organisms and Antimicrobial Drug Discovery. In: **Model Organisms for Microbial Pathogenesis, Biofilm Formation and Antimicrobial Drug Discovery**. Springer: Singapore, 2020. p. 527-543.

RAMIREZ, E.; ROBLES, E.; MARTINEZ, B.; AYALA, R.; SAINZ, G.; MARTINEZ, M. E.; GONZALEZ, M. E. Distribution of free-living amoebae in a treatment system of textile industrial wastewater. **Experimental parasitology**, v. 145, p. S34-S38, 2014.

RAMOS, M. A. D. S.; DA SILVA, P. B.; SPÓSITO, L.; DE TOLEDO, L. G.; BONIFACIO, B. V.; RODERO, C. F.; BAUAB, T. M. Nanotechnology-based drug delivery systems for control of microbial biofilms: a review. **International Journal of Nanomedicine**, v.13, p.1179–1213, 2018.

RANJARD, L.; POLY, F.; NAZARET, S. Monitoring complex bacterial communities using culture independent molecular techniques: application to soil environment. **Research in Microbiology**, v. 51, p 167-177, 2000.

RAWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production, **Appl. Energy** v. 88, p. 3411–3424, 2011.

REDDY, M. V.; MAWATARI, Y.; YAJIMA, Y.; SATOH, K.; MOHAN, S. V.; CHANG, Y. C. Production of poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) P (3HB-co-3HV) from synthetic wastewater using *Hydrogenophaga*

palleronii. **Bioresource technology**, v. 215, p. 155-162, 2016.

REMONSELLEZ, F.; CASTRO-SEVERYN, J.; PARDO-ESTÉ, C.; AGUILAR, P.; FORTT, J.; SALINAS, C.; BARAHONA, B.; LEÓN, J.; FUENTES, B.; ARECHE, C.; HERNÁNDEZ, K. L. AGUAYO, D.; SAAVEDRA, C. P. Characterization and salt response in recurrent halotolerant *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from sediments of Salar de Huasco, Chilean Altiplano. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2228, 2018.

RODRÍGUEZ, E.; ISAC, L.; SALAS, L.; FERNÁNDEZ, N.; ZORNOZA, A.; PÉREZ-UZ, B.; ESTEVEZ, F. **Manual práctico para el estudio de grupos bioindicadores en fangos activos**. Madrid: Tecnología del Agua y EMASESA, 2008.

RYAN, L.; HIGGINS, G.; DOYLE, M. *Aeromonas* species endogenous endophthalmitis. **JMM case reports**, v. 4, n. 5, 2017.

SACRAMENTO, A. G. **Caracterização molecular de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em amostras clínicas, ambientes aquáticos e alimentos**. 2015. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

SALEHIZIRI, M.; AMALFITANO, S.; GALLIPOLI, A.; GIANICO, A.; RAD, H. A.; BRAGUGLIA, C.; FAZI, S. Investigation the influences of quorum quenching and nutrient conditions on activated sludge flocs at a short-time scale. **Chemosphere**, p. 125917, 2020.

SALVADÓ, H. Effect of mean cellular retention time on ciliated protozoan populations in urban wastewater treatment plants based on a proposed model. **Water Research**, v. 28, p.1315-1321, 1994.

SANT'ANNA JUNIOR, G. L. **Tratamento biológico de efluentes: Fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Interciência, 2010.

SANTOS, E. K. **Remoção de cistos de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium* spp. em sistema de tratamento de esgoto sanitário: quantificação em fases líquida e sólida**. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

SANTOS, I. C.; HILDENBRAND, Z. L.; SCHUG, K. A. Applications of MALDI-TOF MS in environmental microbiology. **The Analyst**, v. 141, n. 10, p. 2827–2837, 2016

SANTOS, L. F.; PAIVA, T.C.B.; SILVA, F. T. Microrganismos encontrados no sistema de lodos ativados aplicado ao tratamento do licor negro. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 8071-8078, 2015.

SAUER, S.; FREIWALD, A.; MAIER, T.; KUBE, M.; REINHARDT, R.; KOSTRZEWA, M.; GEIDER, K. Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis. **Plos One** v. 30, n. 7, p. 2843, 2008.

SEVIOUR, R.; NIELSEN, P.H. **Microbial ecology of activated sludge**. London: IWA Publishing; 2010.

SHAHZAD, M.; KHAN, J.S.; PAUL, P. Influence of the temperature on the performance of a full-scale activated sludge process operated at varying solids retention time whilst treating municipal sewage. **Water**, v. 7, p. 855, 2015.

SHRESTHA, L. B.; BHATTARAI, N. R.; KHANAL, B. Antibiotic resistance and biofilm formation among coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples at a tertiary care hospital of eastern Nepal. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 89, 2017.

SIGNORILE, G.; MOLINARI, A.; LUGOLI, F.; SCIANCALEPORE, L.; MONTEMURRO, P.; DE DONNO, M. A. Study of the correlation between microfauna and the macrostructure of activated sludge and the efficiency of biological wastewater treatment plants. **Journal of Preventive Medicine and Hygiene**, v.51, p. 15-19, 2010.

SILVA FILHO, H. A. **Nitrificação em sistema de lodo ativado**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Sanitária), Universidade de Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

SILVA, L.J.V. **Relatório final do projeto executivo do sistema de esgotamento sanitário para o campus da UFS – José Aloísio de Campos, localizado no município de São Cristóvão, Sergipe**. Sergipe, 2012.

SILVA, P. M. J. **Avaliação das diferentes condições operacionais na formação de grânulos aeróbios utilizando reatores em bateladas sequenciais na remoção de nitrogênio e fósforo de esgoto sanitário**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SILVA, R. C. **Tratamento de esgoto sanitário em um reator de leito expandido em escala plena operando com regiões anaeróbias e aeróbias sobrepostas**. 192p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2009.

SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; GREINERT-GOULSRT, J. S.; ROSSETTO, R.; GUIMARÃES, J.R.; FRANCO, R. M. B. Ciliated protozoa community of a combined UASB–activated sludge system in southeastern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, p. 23804–23814, 2016.

SOKHADZE, V. M.; NAMCHEVADZE, E. N.; KIZIRIA, E. N.; TABATADZE, L. V.; LEJAVA, L. V.; GOGICHAISHVILI, S. M.; TVAURI, M. K.; ABULADZE, M. K. The study of time-course toxic impact of Ni on the thermostability of the soil *Arthrobacter oxydans* bacterial cell culture. **Annals of Agrarian Science**, v. 15, n. 2, p. 169-176, 2017.

SONG, B.; CHEN, X. Effect of *Aeolosoma hemprichi* on excess activated sludge reduction. **Journal of Hazardous Materials**, v.162, n.1, p. 300–304, 2009.

SOUTO, C. N. C. **Estudo de reatores em bateladas sequenciais para a remoção simultânea de nitrogênio e fósforo no tratamento de esgoto sanitário**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SOUZA CRUZ, F. V. A. **Avaliação da microfauna de importância sanitária presente em efluentes de diferentes processos de tratamento de esgotos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

SOWINSKA, A.; PAWLAK, M.; MAZURKIEWICZ, J.; PACHOLSKA, M. Comparison of the results from microscopic tests concerning the quality of activated sludge and effluent. **Water** v. 9, n. 12, p. 918, 2018

SREENIVASA, N.; BIDHAYAK, C.; PALLAVI, S. S.; MEGHASHYAMA, P. B.; DATTATRAYA, A.; DHANYAKUMARA, S. B.; CHAITRA, M. Isolation, characterization, and functional group analysis of *Pseudoxanthomonas* indica RSA-23 from rhizosphere soil. **J Appl Pharm Sci**, v. 9, n. 11, p. 101-106, 2019.

STETS, M. A. **Avaliação da influência do material suporte e caracterização da diversidade microbiana de reatores anaeróbios para o tratamento de efluentes de abatedouro.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

STREBLE, Heinz; KRAUTER, Dieter. **Atlas de los microorganismos de agua dulce: la vida en una gota de agua.** Barcelona: Ediciones Omega, 1987.

SU, J. F.; YANG, S.; HUANG, T. L.; BAI, X. C.; LU, J. S.; HE, L.; LI, M Mechanism of the simultaneous removal of nitrate and Ni (II) by *Enterobacter* sp. CC76 through mixotrophic denitrification processes. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 7, p. 1140-1147, 2019.

SU, J.F.; CHENG, C.; MA, F.; LIN HUANG, T.; SUO LU, J.; CHENG SHAO, S. Kinetic analysis of Fe 3+ reduction coupled with nitrate removal by *Klebsiella* sp. FC61 under different conditions. **Rsc Advances**, v. 6, n. 52, p. 46616-46624, 2016.

SUBRAMANYAN, R.; MISHRA, I. M. Characteristics of methanogenic granules grown on glucose in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Biosystems Engineering**, v. 114, p.113-123, 2013.

SURESH, A.; GRYGOLOWICZ-PAWLAK, E.; PATHAK, S.; POH, L. S.; BIN ABDUL MAJID, M.; DOMINIAK, D.; NG, W. J. Understanding and optimization of the flocculation process in biological wastewater treatment processes: A review. **Chemosphere**, v. 210, p. 401–416, 2018.

TAVARES, D. C. **Formação de biomassa granular visando a remoção combinada de matéria orgânica e nutrientes em altas temperaturas.** Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

TAYLOR, T. A.; UNAKAL, C. G. *Staphylococcus aureus*. StatPearls Publishing, 2017. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>> Acesso em 20/06/2020

TEIXEIRA, L. M.; CARVALHO, M.G.S.; SHEWMARKER, L.; FACKLAM, R.R. *Enterococcus*. In: VERSALOVIC, J.; CARROLL, K.C.; JORGENSEN, J.H.; FUNKE, G. LANDRY, M.L.; WARNOCK, D.W. (Ed.). **Manual of Clinical Microbiology**. 10th ed. Washington: ASM Press, 2011. cap. 21, p. 350 - 364.

TOLOUEI, S.; BURNET, J. B.; AUTIXIER, L.; TAGHIPOUR, M.; BONSTEEL, J.; DUY, S. V.; DORNER, S. Temporal variability of parasites, bacterial indicators, and wastewater micropollutants in a water resource recovery facility under various weather conditions. **Water Research**, v.148, p. 446–458, 2019.

TOMONORI, M. **Advances in water and wastewater treatment technology: molecular technology, nutrient removal, sludge reduction and environmental health**. Amsterdam: Elsevier; 2001.

TOP, J.; WILLEMS, R.; BONEN, M. Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 52, n.3, p. 297-308, 2008.

TORRES, D. P. C. **Estudo microbiológico de sistemas de lodos ativados com adição química de ácido fólico**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

VALLVÉ, M. V. **Eliminación del color de las aguas residuales procedentes de la tintura con colorantes reactivos**. Tese (Doutorado em Engenharia Têxtil e Papel) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Têxtil e Papel, Universidade Federal da Catalunha, 2015.

VASCONCELOS, V. M.; PEREIRA, E. Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant (Portugal). **Water Research**, v. 35, n. 5, p. 1354-1357, 2001.

VAZOLLÉR, R. F.; GARCIA, M. A. R.; GARCIA JÚNIOR, A. D.; CONCEIÇÃO NETO, J. **Microbiologia de lodos ativados**. São Paulo: CETESB, 1989.

VILASECA, M. M. Observación microscópica de fangos activados en los tratamientos de depuración biológica. **Boletín Intertex (UPC)**, p. 67-72, 2001.

VON SPERLING, M. **Activated sludge and aerobic biofilm reactors**. London: IWA Publishing, v.5, 340 p. 2007c.

VON SPERLING, M. **Basic principles of wastewater treatment**. London: IWA Publishing, v.1, 195 p. 2007a.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Lodos Ativados**. v.4. 4. ed. rev. e ampl. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2016.

VON SPERLING, M. **Wastewater characteristics, treatment and disposal**. London: IWA Publishing, v.1, 192p, 2007b.

VUONO, D. C.; BENECKE, J.; HENKEL, J.; NAVIDI, W. C.; CATH, T. Y.; MUNAKATA-MARR, J.; DREWES, J. E. Disturbance and temporal partitioning of the activated sludge metacommunity. **ISME Journal**, v. 9, p. 425–335, 2015.

WAHEED, H.; HASHMI, I.; NAVEED, A. K.; KHAN, S. J. Molecular detection of microbial community in a nitrifying–denitrifying activated sludge system. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 527-532, 2013.

WANG, H.; ZHANG, W.; YE, Y.; HE, Q.; ZHANG, S. Isolation and characterization of *Pseudoxanthomonas* sp. strain YP1 capable of denitrifying phosphorus removal (DPR). **Geomicrobiology Journal**, v. 35, n. 6, p. 537-543, 2018.

WANG, X.; WEN, X.; YAN, H.; DING, K.; ZHAO, F.; HU, M. Bacterial community dynamics in a functionally stable pilot-scale wastewater treatment plant. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 2352–2357, 2011.

WANG, X.; YA, T.; ZHANG, M.; LIU, L.; HOU, P.; LU, S. Cadmium (II) alters the microbial community structure and molecular ecological network in activated sludge system. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113225, 2019.

WILÉN, B. M.; MARKIEWICZ, A.; NILSSON, Å. Variation in dissolved oxygen concentration and its effect on the activated sludge properties studied at a full scale wastewater treatment plant. **Proceedings of IWA World Water Congress & Exhibition**, p.19-24, 2010.

WILLEMS, A.; BUSSE, J.; GOOR, M.; POT, B.; FALSEN, E.; JANTZEN, E.; HOSTE, B.; GILLIS, M.; KERSTERS, K.; AULING, G.; DE LEY, J. *Hydrogenophaga*, a new genus of hydrogen-oxidizing bacteria that includes *Hydrogenophaga flava* comb. Nov, (formerly *Pseudomonas flava*), *Hydrogenophaga palleronii* (formerly *Pseudomonas palleronii*), *Hydrogenophaga pseudoflava* (formerly *Pseudomonas pseudoflava* and “*Pseudomonas carboxydoflava*”), and *Hydrogenophaga taeniospiralis* (formerly *Pseudomonas taeniospiralis*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 319-333, 1989.

XAVIER, J. A. **Granulação natural da biomassa em reator operado em bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário**. (2017). Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

XIA, L.; LI, X.; FAN, W.; WANG, J. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge. **Bioresource Technology**, p. 122749, 2020.

XIA, Y.; WANG, X.; WEN, X.; DING, K.; ZHOU, J.; YANG, Y.; ZHANG, Y. Overall functional gene diversity of microbial communities in three full-scale activated sludge bioreactors. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 16, p. 7233-7242, 2014

YANG, C.W.; HSIAO, W.C.; CHANG, B.V. Biodegradation of sulfonamide antibiotics in sludge. **Chemosphere**, v. 150, p. 559-565, 2016.

YANG, D.; CHA, S.; CHOI, J.; SEO, T. *Hydrogenophaga soli* sp. nov., isolated from rice field soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4200-4204, 2017.

YANG, X. P.; WANG, S. M.; ZHANG, D. W.; ZHOU, L. X. Isolation and nitrogen removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying–denitrifying bacterium, *Bacillus subtilis*

A1. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 854-862, 2011.

YOON, J. H.; KANG, S.J.; OH, T.K. *Chryseobacterium daeguense* sp. nov., isolated from wastewater of a textile dye works. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 6, p. 1355-1359, 2007.

YOTOVA, L.; MARINKOVA, D.; MIRONOVA, V.; DULGEROVA, R. Investigation of Formation, Development and Application of *Arthrobacter Oxydans* 1388 Biofilm. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 23, n. sup1, p. 823-826, 2009.

YOUSFI, K.; TOUATI, A.; LEFEBVRE, B.; GARNEAU, P.; BRAHMI, S.; GHAROUT-SAÏT, A.; HAREL, S.; BEKAL, S. Characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacilli isolated from hospitals effluents: first report of a bla OXA-48-like in *Klebsiella oxytoca*, Algeria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 175-183, 2019.

ZAIAT, M. **Desenvolvimento e análise de biorreatores anaeróbios contendo células imobilizadas para tratamento de águas residuárias**. 2003. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

ZHANG, M.; LEUNG, K.T.; LIN, H.; LIAO, B.Q. Characterization of foaming and non-foaming sludge relating to aeration and the implications for membrane fouling control in submerged membrane bioreactors. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 250–259, 2019a.

ZHANG, Y.; XU, Z.; LI, J.; LIU, D.; YUAN, Y.; CHEN, Z.; WANG, G. Enterobacter and Klebsiella in the simultaneous nitrogen removal and phosphate accumulation processes. **Bioresource technology**, v. 291, p. 121854, 2019b.

ZHOU, K.; XU, M.; LIU, B.; CAO, H. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n.4, p. 482–486, 2008.

ZIGANSHIN, A. M.; LIEBETRAU, J.; PRÖTER, J.; KLEINSTEUBER, S. Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 97, p. 5161– 5174, 2013.

APÊNDICE A

Tabela 18 - Valores médios dos parâmetros físico-químicos monitorados (Parte I).

Data	Sólidos Totais (mg/L)			Sólidos Totais Fixos (mg/L)			Sólidos Totais voláteis (mg/L)			Sólidos Suspensos (mg/L)			Sólidos Dissolvidos (mg/L)		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
21/mai	303,5	255,0	275,0	176,5	127,5	174,0	127,0	127,5	101,0	40,0	-	14,0	256,0	-	275,0
28/mai	67,5	120,0	88,0	-	48,0	25,0	-	72,0	56,0	62,0	-	-	-	-	-
04/jun	412,0	328,0	317,0	376,5	319,0	-	35,5	9,0	-	112,5	34,0	16,5	299,5	294,0	300,5
11/jun	249,0	179,0	127,0	123,5	81,0	58,0	125,5	98,0	69,0	47,5	18,0	5,5	201,5	161,0	121,5
18/jun	547,5	479,5	582,5	357,5	325,5	460,5	190,0	154,0	122,0	55,5	22,5	22,0	492,0	457,0	560,5
17/set	834,0	671,0	390,0	548,0	428,9	251,0	286,0	242,1	139,0	60,5	28,0	51,3	773,5	643,0	338,7
24/set	587,0	393,0	510,0	461,0	366,0	460,0	126,0	50,0	50,0	21,0	3,5	13,0	566,0	389,5	497,0
01/out	820,0	655,0	726,0	505,0	555,0	314,0	315,0	100,0	412,0	143,0	35,5	40,5	677,0	619,5	685,5
08/out	513,0	557,0	478,0	320,0	337,0	326,0	193,0	220,0	152,0	36,0	20,5	13,5	477,0	536,5	464,5
22/out	540,0	520,0	642,0	402,0	441,0	481,0	138,0	79,0	161,0	86,0	24,0	97,0	454,0	496,0	545,0
29/out	585,0	409,0	519,0	403,0	324,0	353,0	182,0	85,0	166,0	109,0	81,0	61,0	476,0	328,0	458,0
05/nov	310,0	608,0	430,0	316,0	357,0	274,0	-	251,0	156,0	7,0	136,5	76,5	303,0	471,5	353,5
12/nov	375,0	596,0	501,0	246,0	464,0	346,0	129,0	132,0	155,0	42,5	77,0	27,0	332,5	519,0	474,0
Média	472,6	443,9	429,7	352,9	321,1	293,5	167,9	124,6	144,9	63,3	43,7	36,5	442,3	446,8	422,8

Fonte: Autora (2020)

Tabela 19 - Valores médios dos parâmetros físico-químicos monitorados (Parte II).

Data	Vazão (L/s)	pH			Temperatura (°C)			OD (mg/L)		DQO (mg/L)			SSV (mg/L)	IVL (mg/g)
	P1	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P4 (antes de ligar o aerador)	P4 (depois de ligar o aerador)	P1	P2	P3	P4	P4
21/mai	3,00	7,98	8,02	7,53	30,8	28,2	28,8	-	-	259	211	213	-	-
28/mai	3,20	7,40	8,10	7,83	27,5	28,2	28,2	0,6	1,9	370	283	291	-	-
04/jun	1,71	8,04	8,33	8,02	30,2	31,3	27,7	0,7	1,7	249	202	148	-	-
11/jun	5,79	7,74	8,02	7,55	24,5	24,4	25,3	0,6	2,5	179	132	134	-	-
18/jun	2,27	7,87	8,24	8,01	27,3	25,6	28,1	0,8	1,9	308	229	150	-	-
17/set	2,27	7,61	7,72	7,52	25,6	27,9	25,2	0,6	2,7	176	180	194	184,0	90,1
24/set	2,27	7,23	7,59	7,19	26,3	27,2	27,6	0,5	2,9	138	102	86	100,0	204,4
01/out	2,27	7,69	7,68	7,27	28	28,9	28,5	0,5	2,8	145	112	115	125,0	95,6
08/out	1,98	7,13	7,46	7,26	24,7	24,8	25,6	0,8	4,4	97	63	58	-	96,6
22/out	1,71	7,61	7,93	7,95	27,9	26,3	27,7	-	-	152	171	104	74,0	195,8
29/out	1,98	7,36	7,80	7,93	29,8	26,2	26,6	0,4	2,5	263	160	144	179,0	81,0
05/nov	1,71	8,18	7,94	7,54	27,9	26,9	28,3	-	-	227	169	104	128,0	113,2
12/nov	0,14	8,00	7,80	7,30	29	29,6	29,5	0,8	3,8	163	165	155	170,0	74,1
Média	2,33	7,68	7,89	7,61	27,7	27,3	27,5	0,6	2,7	210	168	146	137,1	118,8

Fonte: Autora (2020)